
22102268531

HANDBUCH

der

Physiologisch- und Pathologisch-

CHEMISCHEN ANALYSE

für

Aerzte und Studirende.

HANDBUCH

der

Physiologisch- und Pathologisch-

CHEMISCHEN ANALYSE

für

Aerzte und Studirende.

Von

Felix Hoppe-Seyler,

Doctor der Medicin und Naturwissenschaften, ord. Professor der physiologischen Chemie an der Universität Strassburg.

Fünfte Auflage.

Mit 18 Figuren in Holzschnitt.

Berlin 1883.

Verlag von August Hirschwald.

NW. Unter den Linden 68.

Vorrede zur fünften Auflage.

Die physiologisch-chemische Forschung hat in den letzten Jahren so zahlreiche vielseitige und werthvolle Ergebnisse gefördert, dass eine vollständige Umarbeitung mehrerer Abschnitte dieses Handbuchs für die neue Auflage erforderlich wurde. Mehr oder weniger vollständig neu bearbeitet sind in derselben die Paragraphen über die fetten flüchtigen Säuren, Alkohole, Milchsäuren, Kohlehydrate, die aromatischen Körper, die Albuminstoffe, einige Proteide und Fermente, mehrere Titrirmethoden für den Harn, Untersuchung der Bestandtheile in serösen Flüssigkeiten und einigen Secreten, besonders der Milch, ausserdem der Muskeln, drüsigen Organe, des Gehirns und der Nerven und über den Nachweis von Blut in Flecken. Trotz möglichster Kürze in den Angaben und Weglassung älterer weniger brauchbarer Untersuchungsmethoden hat eine Vergrösserung des Umfangs dieser Auflage um einige Bogen gegen die vorhergehende nicht vermieden werden können.

Strassburg, 21. Januar 1883.

Der Verfasser.

Inhaltsübersicht.

Einleitung.

Eine Anleitung zu analytischen Untersuchungen kann keinen anderen Zweck haben, als die chemischen Gesichtspunkte zu erläutern, welche man bei diesen Arbeiten im Auge zu behalten hat, und die Methoden zu beschreiben, nach welchen man die Untersuchungen möglichst schnell und doch sicher zu dem gesuchten Ende führt. Wenn es nun schon dem Chemiker von Fach eine höchst erwünschte Sache ist, sicher aber auch schnell bestimmte Antworten auf die für die Prüfung gestellten Fragen zu erhalten, so ist dies in noch höherem Grade für den Mediciner der Fall, welcher, wenigstens was den Praktiker anlangt, meist nicht viel Zeit mit chemischen Untersuchungen verlieren will, auch nicht verlieren darf. Es ist daher in dieser Anleitung das ganze Augenmerk darauf gerichtet, schnell ausführbare Methoden zu geben, wo sich solche bis jetzt geboten haben, doch musste dabei auch der Sicherheit der zu erwartenden Resultate genügend Rechnung getragen werden; eine Methode, welche, wenn auch schnell ausführbar, nicht unzweifelhaft sichere Resultate liefert, ist gänzlich zu verwerfen. Die Sicherheit und Schnelligkeit der Ausführung chemischer Untersuchungen hängt aber wesentlich von der Kenntniss der Eigenschaften derjenigen Körper, mit denen man arbeitet, und der technischen Fertigkeit des Arbeitenden ab. Es wird daher keiner Rechtfertigung bedürfen, dass in dieser Anleitung der eigentlichen Schilderung der Untersuchungsmethoden einige Anweisungen und Winke bezüglich der Technik der hier in Anwendung kommenden Operationen, einige Angaben über die häufiger gebrauchten Reagentien und eine ausführliche Darlegung der einzelnen im Körper der höheren Thiere bereits fertig gebildeten oder aus diesen als nächste Zersetzungsproducte hervorgehenden Stoffe vorangeschickt sind.

I. ABTHEILUNG.

Chemische Technik, Gebrauch der Apparate.

I. Allgemeine chemische Operationen.

1. Die am Häufigsten bei qualitativen physiologisch-chemischen Untersuchungen zur Anwendung kommenden Operationen sind Kochen, Abdampfen, Filtriren von Flüssigkeiten, Auswaschen der Niederschläge, Trocknen und Glühen. Auch diese einfachen Proceduren erfordern Uebung und Aufmerksamkeit, und es ist von der richtigen Ausführung derselben das Gelingen selbst einfacher Untersuchungen abhängig. Es mögen daher zunächst über diese Operationen einige praktische Bemerkungen hier Platz finden, die besonders das Verhalten der thierischen Stoffe bei denselben betreffen.

Kochen und Abdampfen von Flüssigkeiten.

2. Das Kochen der Flüssigkeiten geschieht in Reagirkölbchen, Kolben, Kochflaschen, Porzellanschalen, das Abdampfen wässeriger Flüssigkeiten nur in letzteren. Alkoholische Flüssigkeiten können in hinreichend hochwandigen Schalen oder besser in Bechergläsern, ätherische oder Chloroformlösungen nur in letzteren ohne Verlust verdunstet werden. Zum Abdampfen kleiner Mengen wässeriger Flüssigkeiten sind Uhrschalen sehr geeignet. Alkoholische oder ätherische Lösungen dürfen nur auf dem Wasserbade, nie direct über der Gas- oder Weingeistflamme verdunstet werden, da sich ihr Dampf an der Flamme leicht entzündet.

Viele Flüssigkeiten, besonders zuckerhaltige, bräunen sich beim Kochen und Abdampfen bei hoher Temperatur, besonders über freiem Feuer. Man dampft sie am Besten bei einer Temperatur von 40 bis 60° entweder direct über kleiner Flamme oder im Wasserbade ein,

indem man durch fleissiges Umrühren die Verdunstung des Wassers beschleunigt. Ziemlich verdünnte Flüssigkeiten, z. B. Harne, verdampft man am Besten zunächst über freiem Feuer bei mässigem Sieden und setzt, wenn sie concentrirter geworden sind, das Abdampfen auf dem Wasserbade fort.

Durch gutes Umrühren vermeidet man auch möglichst das heftige Stossen und Spritzen, welches leicht eintritt, wenn sich schwere Niederschläge aus den kochenden Flüssigkeiten absetzen, z. B. beim Eindampfen bereits concentrirter Harne oder Salzlösungen über freiem Feuer.

Eiweisshaltige Flüssigkeiten sind langsam unter gutem Umschütteln oder Umrühren mit einem Glasstabe zum Kochen zu erhitzen. Selbst im Probirröhrchen tritt wegen schlechter Wärmeleitung der Eiweisscoagula leicht Bräunung eiweissreicher Flüssigkeiten ein, wenn man nicht durch Umdrehen und Schütteln die Erhitzung möglichst gleichmässig auf die ganze Flüssigkeit wirken lässt.

Zu heftige plötzliche Erhitzung durch eine heisse Flamme an einer Stelle zersprengt nicht allein fast immer die Gefässe, sondern verdirbt auch sicher die ganze Flüssigkeit, wenn sie eiweissreich ist. Will man die Braunfärbung beim Kochen eiweissreicher Flüssigkeiten sicher vermeiden, so trägt man diese in kleinen Portionen unter gutem Umrühren in bereits siedendes Wasser ein.

Wässerige oder alkoholische Flüssigkeiten, welche bei höherer Temperatur Zersetzung befürchten lassen, dampft man bei gewöhnlicher Temperatur mittelst der Luftpumpe über Schwefelsäure ein.

Filtriren durch Asbest, Glaswolle, Leinwand, Papier.

3. Die Trennung der Flüssigkeiten von Niederschlägen erfolgt meist mittelst Filtration durch ungeleimtes Papier. Will man letzteres als leicht zerstörbaren organischen Körper vermeiden, so bringt man einen in der Flamme vorher zum Glühen erhitzten Asbestpfropf oder eine Portion Glaswolle in die Spitze eines Glastrichters und stopft ihn hier nicht zu fest vor die Oeffnung der Röhre des Trichters; sehr feinkörnige Niederschläge werden von der Glaswolle oder dem Asbestpfropf gut zurückgehalten. Das Filtriren durch Leinwand dient entweder zur ersten gröberen Scheidung massiger, schwerer, grobkörniger Niederschläge von den Flüssigkeiten, oder man zieht es in Anwendung bei Filtration schleimiger Flüssigkeiten, welche Papier-

filtra schnell verstopfen würden (z. B. Trennung des geschlagenen Faserstoffs vom Blute). Dem Filtriren durch Leinwand kann man fast stets ein Auspressen des Niederschlags im Leinwandbeutel mit der Hand oder einer Presse folgen lassen. Um starkes Pressen anwenden zu können, bedient man sich als Einhüllung des zu pressenden Breies am Besten des aus Wolle gewobenen Oelpresstuches. Zum Auspressen von gehacktem Fleisch eignet sich besonders ein sehr starkes Netz oder Gewebe aus Hanffäden.

Die Papierfiltra sollen ein wenig kleiner sein als die Glastrichter, für welche sie bestimmt sind; nie darf das Filter über den Rand des Trichters hinausragen, da sonst völliges Auswaschen unmöglich wird. Es ist meist zweckmässig, das Filter zu befeuchten und an die Wandung des Trichters überall anzulegen, ehe man die zu filtrirende Flüssigkeit aufgiesst. Sehr grosse Filtra, durch welche wässerige Flüssigkeiten filtrirt werden sollen, unterstützt man dadurch, dass man die Spitze derselben in ein kleineres Filter stellt.

Das Aufgiessen der Flüssigkeiten ist behutsam auszuführen, damit kein Verlust durch Spritzen entsteht und nicht durch den plötzlichen Stoss das Filter zerrissen wird. Man giesst an einem senkrecht angelegten Glasstabe aus nicht zu gefülltem Gefässe hinab, so dass die Flüssigkeit am Glasstabe hinabrieselnd unter stumpfem Winkel etwa die Mitte der Seitenwand des Filters trifft.

Auswaschen der Niederschläge.

4. Das Auswaschen der Niederschläge auf dem Filter geschieht mittelst der Spritzflasche. Es ist besonders darauf zu achten, dass der Strahl der Waschflüssigkeit weder zu heftig stossend wirkt, noch die Filterwand oder den Niederschlag senkrecht trifft, da sonst das Papier zerreissen und Verspritzen der Niederschläge stattfinden kann. Man darf auch die Filtra nicht zu hoch mit Flüssigkeit füllen, insbesondere ist es rathsam, genügenden Raum im Filter leer zu lassen, wenn sehr feinkörnige Niederschläge abzufiltriren sind. Im Ganzen gilt die Regel, Niederschläge zunächst sich absetzen zu lassen, sodann zuerst die Flüssigkeit zu filtriren und endlich den Niederschlag selbst aufs Filter zu bringen, indem man ihn mit der erforderlichen Waschflüssigkeit (meist also Wasser) oder mit etwas bereits filtrirter Flüssigkeit, die man zurückgiesst, allmälig völlig auf dem Filter sammelt. In den meisten Fällen ist es zweckmässig, erst dann von Neuem

Flüssigkeit auf das Filter zu giessen, wenn die vorhergehende Portion bereits das Filter passirt hat, doch ist es in einzelnen Fällen besser, das Filter stets voll Flüssigkeit zu erhalten. Um das Hineinfallen von Staub und die Verdunstung in den Filterrändern zu verhüten, bedeckt man den Trichter mit einer Glasplatte.

Sehr massige feinkörnige oder gelatinöse Niederschläge werden auf dem Filter nur sehr schwer vollkommen ausgewaschen. Hier ist es zweckmässiger, durch Decantiren, d. h. durch Abgiessen der Flüssigkeit vom Niederschlage so gut es geht, Aufgiessen einer Portion Waschflüssigkeit auf denselben, Umrühren, Absetzenlassen, Abgiessen dieser Flüssigkeit und Wiederholung dieser Procedur, die Niederschläge von gelösten Substanzen allmälig zu befreien. Man filtrirt dann die abgegossenen Flüssigkeiten und bringt nach völligem Auswaschen endlich den ganzen Niederschlag aufs Filter. Bedeutende Beschleunigung der Filtration erreicht man durch Anwendung der Wasserluftpumpe nach Bunsen's Vorschriften (Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. 148 S. 269). Das Filter wird stets zerrissen, wenn es hierbei nicht durch entsprechend der konischen Gestalt des Trichters gebogenen Platinblecheinsatz gestützt wird. Unter den sehr zahlreichen in neuerer Zeit empfohlenen Apparaten sind die einfachsten Glasapparate für die meisten Zwecke ausreichend.

Filterasche.

5. Es ist wohl darauf zu achten, dass auch das beste Filtrirpapier, selbst das feinste schwedische, etwas Asche (Eisenoxyd, Thonerde, Kalk, Kieselsäure u. s. w.) enthält. Um Filtra fast völlig aschefrei zu erhalten, extrahirt man sie mit verdünnter Salzsäure und wäscht sie darauf mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction des Waschwassers.

Durch concentrirte Mineralsäuren sowie durch starke Laugen der fixen Alkalien wird das Filtrirpapier zerstört.

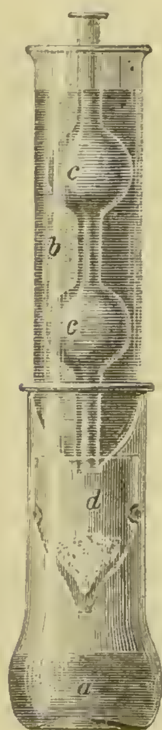
Extrahiren.

6. Das Extrahiren einer festen Masse durch eine Flüssigkeit gelingt nur dann schnell und vollständig, wenn die Masse in hinreichend fein vertheiltem Zustande der extrahirenden Flüssigkeit dargeboten wird. Sind die zu extrahirenden Körper pulverisirbar, so

verwandelt man sie vor dem Aufgiessen der Flüssigkeit in ein möglichst feines Pulver; sind sie nicht pulverisirbar, so bringt man sie, wenn sie breiige, schleimige oder harzige Consistenz haben, wenn möglich erst in concentrirte, wässerige oder alkoholische Lösung und übergiesst nun unter gutem Umrühren mit der extrahirenden Flüssigkeit und verwandelt somit die Extraction in eine Fällung der nicht löslichen Substanzen. Um thierische Organe zu extrahiren, z. B. Muskeln, zerkleinert man sie vorher entweder durch Zerreiben mit Glasstücken oder durch eine Fleischhackmaschine, am Besten durch Zerhacken mit schwerem Hackmesser auf ebenem Brett aus hartem Holz. Alle eiweisshaltigen Substanzen extrahirt man mit Wasser am Besten unter der Coagulations-Temperatur der Albuminstoffe und entfernt dann im Extracte das Eiweiss durch Aufkochen.

Zur Trennung der Fette u. s. w. von anderen Stoffen durch Extraction ersterer mittelst Aether oder Chloroform eignen sich im Ganzen wässerige Lösungen oder Emulsionen besser als die festen Verdampfungsrückstände dieser Flüssigkeiten. Man schüttelt die Lösungen mit Aether oder Chloroform, lässt dann einige Zeit stehen und trennt die Flüssigkeiten durch Abgiessen. Ist die Aether- oder Chloroformlösung dann noch trübe, schleimig und trennen sich die Flüssigkeiten schlecht, so fügt man Alkohol unter Umschütteln hinzu, bis die Flüssigkeiten sich trennen und klären, scheidet sie im Scheidetrichter und wäscht mehrmals die Aether- oder Chloroformlösung mit Wasser zur Entfernung des Alkohols. Zur quantitativen Extraction von Fett etc. aus pulverigen Substanzen mit Aether oder Chloroform sind zahlreiche Apparate empfohlen, von denen der von Ed. Thorn construirte wohl der zweckmässigste ist. In Fig. 1. ist dieser Apparat abgebildet. Die Kugelröhre *cc*, unten und oben offen, ist unten an *b* angeschmolzen, *b* ist in den Hals des Kolben *a* eingeschliffen. Das Trichterchen *d* wird von drei Vorsprüngen des Kolben *a* nach innen getragen. Es wird die zu extrahirende Substanz auf einen Pfropf Glaswolle oder Asbest oder auf ein Papierfilterchen in *d* gebracht, in *a* die zur Extraction dienende Flüssigkeit eingegossen, *b* mit Eiswasser gefüllt, dann der Apparat auf dem Wasserbade erwärmt. Die in *cc* condensirte Flüssigkeit tropft auf die Sub-

Fig. 1.



stanz in *d* und das Extract filtrirt nach *a* ab. Der Apparat empfiehlt sich für quantitative Bestimmungen.

Trocknen.

7. Nicht leicht zersetzliche Substanzen trocknet man im sogenannten Trockenschranke oder auf dem Wasserbade oder im kleinen Luftbade bei 100 bis 120°; viele Substanzen können, ohne Zersetzung zu erleiden, selbst bei 130 bis 140° getrocknet werden. In manchen Fällen ist es zweckmässig, die Substanzen in einer Röhre im langsamen Luftstrome, der vorher durch ein mit Chlorcalciumstücken gefülltes Rohr oder eine concentrirte Schwefelsäure enthaltende Waschflasche seines Wasserdampfes beraubt ist, zu trocknen, indem man die Röhre, welche die Substanz enthält, in ein Luftbad oder Wasserbad einlegt. Den Luftstrom erzeugt und regulirt man durch einen Aspirator.

Die Kugel des Thermometers, welches die Trockentemperatur im Luftbade anzeigt, soll eben so wenig als das Gefäss, in welchem sich der zu trocknende Körper befindet, irgendwo die Wandung des Luftbades direct berühren; beide sollen etwa in gleicher Höhe mindestens 2 bis 3 Cm. hoch über dem Boden des Luftbades stehen. Die Luftbäder haben gewöhnlich zu dem Zwecke, das Gefäss mit der Substanz aufzunehmen, einen metallenen Träger in der angegebenen Höhe über dem Boden des Luftbades. Ist das Gefäss, in dem sich die zu trocknende Substanz befindet, ein metallenes, so stellt man es am Besten auf ein Dreieck aus feinem Platindraht oder auf ein Stück Papier, damit nicht durch metallene Leitung das Gefäss und somit der zu trocknende Körper eine höhere Temperatur erlangt, als das Thermometer des Luftbades anzeigt. Man heizt das Luftbad langsam durch eine kleine Flamme bis auf die erforderliche Temperatur.

Filtrirpapier und andere hygroskopische Substanzen, somit auch alle pulverförmigen Körper trocknet man in Gefässen, welche man noch heiss gut verschliessen kann. Insbesondere empfiehlt sich hierzu der allgemein gebrauchte Apparat, bestehend aus zwei gut auf einander passenden Uhrgläsern und einem metallenen Halter, welcher die Ränder der Uhrgläser dicht auf einander gedrückt hält. Man bringt die zu trocknenden Pulver oder Filter in das eine der Uhrgläser, legt das andere umgekehrt lose darauf, so dass es jedoch nicht schliesst, erhält die Substanz in den Uhrgläsern etwa ¼ Stunde im Luftbade bei der erforderlichen Temperatur (Filter dürfen nicht wohl über 130° erhitzt werden), öffnet dann das Luftbad, schiebt das obere

Glas über das untere, so dass sie gut schliessen, schiebt auch den Halter über und lässt den Apparat mit der enthaltenen Substanz unter einer Glasglocke über einer Schale, welche mit concentrirter Schwefelsäure oder Natronkalk halb gefüllt ist, erkalten.

Sind die zu trocknenden Körper zu voluminös, um zwischen zwei Uhrgläsern Platz zu finden, so bedient man sich mit Vortheil eines kleinen Becherglases mit aufgeschliffener Glasplatte statt der Uhrgläser.

Substanzen, welche hohe Temperatur nicht ohne Zersetzung ertragen, trocknet man bei gewöhnlicher Temperatur über concentrirter Schwefelsäure im luftverdünnten Raume. Das Trocknen erfordert hier aber, selbst wenn die Substanzen relativ grosse Oberfläche haben, meist mehrere Tage; insbesondere trocknen uncoagulirte Eiweissstoffe schwer vollständig aus. Sind die Substanzen noch sehr nass, wenn man sie auf den Recipienten der Luftpumpe bringt, so vermeide man beim Evacuiren den Siedepunkt der benetzenden Flüssigkeit zu erreichen, da beim plötzlichen, meist stossweisen Sieden leicht durch Verspritzen Verluste entstehen.

Sicherheit über völlig vollendetes Austrocknen giebt nur Wägen der Substanz, Wiederholung des Trocknens und Wiederwägen. Ist das Gewicht beim zweiten Wägen gleich dem früher gefundenen, so ist die mögliche Trockenheit erreicht.

Glühen.

8. Substanzen, die man hohen Hitzegraden aussetzen will, sind stets vorher hinreichend zu trocknen. Man glüht dieselben im Porzellan- oder Platintiegel, kleine Proben auch auf einem Stück Platinblech oder im Platinlöffel; enthalten jedoch die zu glühenden Substanzen leicht reducirbare Metalle, als: Kupfer, Blei, Silber, Gold, Zinn, oder enthalten sie Jod, Brom, Phosphor, so sind alle Platingefässe zu vermeiden. Hat man auf dem Filter gesammelte Niederschläge zu glühen, so setzt man den Tiegel auf ein Stück Glanzpapier, öffnet vorsichtig das mit dem Niederschlage vorher gut getrocknete Filter, schüttet den Inhalt in den Tiegel aus, legt dann das vom Niederschlage ziemlich gereinigte Filter auf ein zweites Stück Glanzpapier, schüttet die Stäubchen, welche etwa neben den Tiegel gefallen sind, in denselben ein, faltet das Filter zusammen und legt es gleichfalls in den Tiegel. Man stellt dann den Tiegel auf oder richtiger in ein Dreieck von nicht zu schwachem Eisendraht oder

besser Platindraht (nie auf einen Messing- oder Kupferträger); sehr zweckmässig ist es, in einem Dreieck von Eisendraht ein kleineres Dreieck von Platindraht auszuspannen und letzteres als Träger für den Tiegel zu benutzen. Die Erhitzung des Tiegels darf dann nur allmälig höher und höher durch die Flamme gesteigert werden, und man hat um so sorgfältiger die heftige Erhitzung zu vermeiden, je lebhafter Gas- und Rauchentwickelung sich zeigt. Ein Auflegen des Deckels ist im Anfang zweckmässig, ebenso auch bei Veraschungen am Ende, um durch möglichste Steigerung der Hitze die letzten Spuren von Kohle, die die Wandungen des Tiegels nicht unmittelbar berühren, zu entfernen. Das Auflegen des Deckels im Anfange ist besonders wichtig, um Verluste durch Zerplatzen von Krystallen (Decrepitiren) oder trockener amorpher Stoffe, Albumin, Leim u. s. w. zu vermeiden. Durch zu schnelles Erhitzen erhält man leicht Verluste an feuerbeständigen Substanzen durch die heftig entweichenden Gase; Eisenoxyd und Platin können beim schnellen Erhitzen von Hämatin und Platinsalmiak reichlich durch die Gase fortgerissen werden; Auflegen des Deckels wirkt hierfür eher schädlich als nützlich. Nach beendetem Glühen lässt man den Tiegel auf dem Dreieck ein Wenig erkalten, bringt ihn aber, falls man die geglühte Masse wägen will, noch heiss in den Schwefelsäure-Trockenapparat und lässt sie hier völlig erkalten, ehe man zum Wägen schreitet.

Untersuchung der Krystalle.

9. Die Darstellung der Krystalle der verschiedenen krystallisirbaren Körper ist so verschiedenartig, dass sich allgemeine Regeln kaum geben lassen. Nur für die mikroskopische Untersuchung ist es von Wichtigkeit, darauf aufmerksam zu machen, dass man in vielen Fällen am Besten thut, die Krystalle des Körpers, die man untersuchen will, auf dem Objectträger sich selbst bilden zu lassen, da feine Krystalle auch bei vorsichtiger Behandlung beim Uebertragen auf den Objectträger meist sehr beschädigt werden. Man bringt zu dem Zwecke einen Tropfen der concentrirten Lösung der zu prüfenden Substanz auf den Objectträger, legt ein Deckgläschen auf und lässt einige Zeit an der Luft, oder wenn der Körper leicht zerfliessende Krystalle bildet, im Schwefelsäure-Trockenapparate stehen, lässt nöthigenfalls von Zeit zu Zeit noch einige Tropfen der ganz concentrirten Lösung von der Seite hinzufliessen, untersucht schliess-

lich die gebildeten Krystalle mit dem Mikroskope, während sie allseitig von der concentrirten Lösung umgeben sind. Um bei unregelmässigen Knollen- oder Kugelformen zu entscheiden, ob sie aus Krystallen oder aus amorphen Stoffen gebildet sind, untersucht man die fraglichen Körper unter Anwendung des Polarisationsapparates und eines dünnen Gyps- oder Glimmerblättchens, welches bei gekreuzten Nicols so unter den Objectträger geschoben ist, dass das Licht erst durchs Glimmerblättchen und dann durch die zu prüfenden Krystalle geht. Ist das Glimmerblättchen richtig orientirt, so ist das Gesichtsfeld lebhaft gefärbt und darüber befindliche Krystalle werden, wenn sie nicht dem regulären System zugehören, je nach ihrer Lage gleiche oder andere Farben haben, als das übrige Gesichtsfeld, während amorphe Substanzen keine Aenderung oder Färbung des Gesichtsfeldes hervorrufen. Thierische oder pflanzliche Gewebstheile zeigen jedoch so wie die nicht regulären Krystalle Doppelbrechung und lassen sich daher durch die Prüfung im polarisirten Lichte mit dem Glimmerblättchen nicht von letzteren unterscheiden. Auch solche Substanzen, welche in Wasser aufgequollen auf dem Objectträger eintrocknen, zeigen während und nach dem Trocknen Doppelbrechung, da sie beim Trocknen eine unregelmässige Spannung erhalten; so zeigt es sich z. B. beim Leim. Es sind daher alle auf Krystallisation zu prüfenden Körper vor dem Trocknen während der Untersuchung zu schützen, indem man sie stets von Flüssigkeit umgeben erhält.

Trennung durch Endosmose oder Dialyse.

10. Seitdem man in dem vegetabilischen Pergament einen der Fäulniss und der Veränderung durch die gewöhnlichen Agentien nicht ausgesetzten, zu endosmotischen Versuchen sehr gut geeigneten Stoff besitzt, hat man mehrfach die endosmotischen Vorgänge zur Trennung von Substanzen empfohlen, welche mit verschiedener Geschwindigkeit oder gar nicht durch die Poren dieses Pergamentes sich ergiessen können. Einige Stoffe, wie arabisches Gummi und Albuminstoffe, sind der Diffusion kaum fähig; bringt man sie in concentrirter Lösung in eine Flasche, deren Boden abgesprengt und durch ein wasserdicht übergebundenes Stück vegetabilisches Pergament ersetzt ist, und setzt die so gefüllte Flasche in eine Schale mit destillirtem Wasser, so gehen kaum bemerkbare Spuren dieser Stoffe durch die Membran in das Wasser über. Enthält die Albumin- oder Gummilösung dagegen

Salze oder im Allgemeinen der Diffusion fähige Substanzen, so treten diese, falls sie nicht vom Gummi oder Albumin durch chemische Affinität festgehalten sind, so lange in das Wasser über, bis die Concentration der äusseren wässerigen Lösung der der inneren für diese Substanzen nahezu gleich geworden ist. Wenn man nun sonach im Stande ist, diffusible Körper (Krystalloïde nach Graham) von nicht diffusiblen (Colloïde, Graham) zu trennen, indem man die Mischungen beider in obiger Weise mit Wasser sich diffundiren lässt, nach einigen Stunden das Wasser aussen in der Schale durch neues ersetzt, nach wieder einigen Stunden abermals wechselt, so können bedeutende Quantitäten der diffusiblen Substanzen aus der ursprünglichen Mischung entfernt und durch Verdunsten u. s. w. der äusseren wässerigen Lösungen für sich gewonnen werden. Man gelangt aber auch bei möglichster Begünstigung schneller Diffusion sehr langsam dahin, die Salze u. s. w. völlig von Gummi, Schleim, Albuminstoffen u. dergl. zu trennen. Graham, welcher diese Scheidungsmethode zuerst in umfassenderer Weise angewendet hat, nennt dieselbe Scheidung durch Dialyse*). Um recht schnelle Diffusion zu bewirken, ist, abgesehen von der Wahl einer guten Sorte Pergamentpapier, 1) die Diffusionsfläche, d. h. die Membran, durch welche die Diffusion stattfindet, recht gross zu nehmen, 2) die specifisch schwerere Flüssigkeit soll in der Flasche sein und diese so im Wasser aufgehängt werden, dass die Membran nicht nach innen hineingedrückt wird, 3) höhere Temperatur begünstigt die Diffusionsgeschwindigkeit ebenso wie 4) öfteres mässiges Schütteln der Flüssigkeit in der Flasche. Der Strom verlangsamt sich immer mehr, je geringer der Gehalt der Mischung in der Flasche an diffusiblen Substanzen wird; man thut daher gut, nach einiger Zeit den Inhalt der Flasche etwas einzudampfen und nun weiter der Dialyse mit Wasser zu unterwerfen.

Prüfung der Reaction von Flüssigkeiten.

11. Zur Prüfung der Reaction in Blut, Nerven, Muskeln und anderen Organen sind verschiedene Vorschläge zur Vermeidung von Täuschungen gemacht. Kühne**) bringt Blut in einen kleinen Dialysator aus Pergamentpapier und prüft das Diffusat mit Lackmus u. s. w.

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 121. S. 1. 1862.

**) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 33.

Liebreich*) verwendet Alabastergypsplatten, mit Lackmuslösung gefärbt, lässt das Blut oder Nervensubstanz kurze Zeit darauf und entfernt dann durch einen Wasserstrahl. Zuntz**) bringt auf geglättetes Lackmuspapier zunächst eine concentrirte Lösung von NaCl oder Na_2SO_4, dann dazu einen Tropfen Blut und wäscht nach kurzer Zeit das Blut mit der Salzlösung fort. Schäfer***) empfiehlt ein geglättetes Lackmuspapier von Townson u. Mercer, Bishopsgate Street London, auf welchem ohne Salzlösung Blutstropfen untersucht werden können, welche nach kurzem Verweilen darauf entfernt werden und die Reaction bleibend erkennen lassen.

---

2. Messungen.

Volumenbestimmung.

12. Zur Messung der Volumina von Flüssigkeiten bedient man sich calibrirter Röhren, Cylindergläser, Kolben, Pipetten und Büretten mit aufgeätzter oder mittelst des Diamants aufgeschriebener Theilung. Die Messung mittelst der Kolben und Pipetten ist die genaueste, aber solche Messungen sind nur für einzelne bestimmte Volumina brauchbar (Literkolben, 20 CC. fassende Pipette u. s. w.). Zur Ausführung recht genauer Messung des Volumens einer Flüssigkeit ist genaue Markirung vom Stande des Niveau dieser Flüssigkeit erforderlich; man benutzt hierzu die untere Grenze des dicken (bei durchfallendem Lichte durch Reflexion und Brechung dunkel erscheinenden) Ringes, welcher sich an der Peripherie des Niveau durch Emporsteigen der Flüssigkeit an der Glaswandung bildet. Man liest den Stand des Niveau bei vollkommen verticaler Stellung (oder Hängen) des Gefässes und bei durchfallendem Lichte ab, indem man das Auge möglichst genau im Horizonte der Flüssigkeit zu halten sucht. In Büretten bestimmt man den Stand des Niveau am Leichtesten und Genauesten durch Aufsetzen eines gut gearbeiteten Erdmann'schen Schwimmers auf die Flüssigkeiten. Zur Abmessung von Flüssigkeiten mittelst der Mohr'schen Quetschhahnbürette füllt man dieselbe zunächst mit der

---

*) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 1. S. 48.

**) Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1867. No. 51.

***) Journ. of Physiol. Vol. 3. No. 3. 1882.

betreffenden Flüssigkeit ganz an, öffnet plötzlich den Quetschhahn, so dass die hinabstürzende Flüssigkeit die Luft aus dem Kautschukrohr und der Spitze austreibt, lässt dann bis zum 0-Strich der Theilung der Bürette vorsichtig ablaufen und beginnt nun die Abmessung des gesuchten Volumens der Flüssigkeit durch vorsichtiges Ablaufenlassen derselben, unter Beobachtung der Theilung, in ein untergesetztes Gefäss.

Je zäher die Flüssigkeit ist, desto langsamer hat man dieselbe bei Abmessung bestimmter Volumina aus der Bürette ausfliessen zu lassen; man lässt dann die Bürette auch noch einige Zeit stehen und beobachtet dann, ob nicht das Niveau nachträglich in der Bürette gestiegen. Das nachträgliche Steigen geschieht beim Abmessen zäher Flüssigkeiten (Blut, Eiter u. s. w.) meist in sehr bemerklichem Grade, selbst wenn man ziemlich langsam ausfliessen liess, und wenn man dann diese nachträglich an der Wandung langsam herabfliessende Quantität der Flüssigkeit nicht gleichfalls in das unterstehende Gefäss zur früher abgemessenen Quantität hinzufügen wollte, würde man durchaus fehlerhafte Volumenbestimmungen erhalten.

Die im Handel gewöhnlich zu erhaltenden Messgefässe sind zu unterscheiden in solche, welche auf Einguss, und solche, die auf Ausguss markirt sind. Literkolben sind stets auf Einguss gestellt, d. h. ihr Inhalt bis zur Marke am Halse ist wirklich 1 Liter (nach Mohr fertigt man jedoch Literkolben, welche 1,0012 Liter enthalten, indem 1 Kgrm. Wasser von 17,5 ° darin abgewogen und das Niveau desselben am Halse durch eine Marke bezeichnet wird). Pipetten sind stets auf Ausguss markirt, d. h. die Pipetten fassen bis zu ihrer Marke das durch den Titre angegebene Flüssigkeitsvolumen, welches man durch Ausfliessen desselben in ein anderes Gefäss erhält, ausser dem Quantum Flüssigkeit, welches beim Ausfliessenlassen an der Glaswandung haftet. Die Büretten sind ebenso wie die Pipetten calibrirt.

Genaue volumetrische Bestimmungen erfordern auch Beobachtung der Temperatur der Flüssigkeit bei der Abmessung, da dieselbe Masse Flüssigkeit je nach der verschiedenen Temperatur, bei der man sie untersucht, verschiedenes Volumen einnimmt. Man darf nun bei den hier in Betracht kommenden Flüssigkeiten annehmen, dass sie annähernd durch Erhöhung der Temperatur gleiche Ausdehnung erfahren als destillirtes Wasser. In der Tabelle I. (siehe Anhang) giebt die Columne A. die Werthe, mit denen man ein bestimmtes Volumen zu dividiren hat, um das Volumen zu erhalten, welches dieselbe Masse

Flüssigkeit bei 0 ° haben würde, z. B. 1000 CC. Flüssigkeit bei 20 ° abgemessen sind bei 0 °

$$= \frac{1000}{1,00157} \text{ also } = 998,43 \text{ CC.}$$

Wägung.

13. Die Construction guter chemischer Wagen, ihre Prüfung auf Richtigkeit und Empfindlichkeit sind in den verbreitetsten Lehrbüchern der Physik in genügender Ausführlichkeit besprochen und es kann hier um so mehr eine Darlegung dieser Dinge unterbleiben, als für physiologisch-chemische Untersuchungen an die Wage keine andere Anforderung gemacht wird als bei anderen chemischen Arbeiten; daher mögen nur einige stets zu beherzigende praktische Regeln hier Platz finden.

Möglichst geringe Belastung, Vermeidung von Stössen, Staub, oxydirenden Gasen und Wasserdampf, vorsichtiges Lösen und Schliessen der Arretirung beim Wägen sind die wesentlichsten Vorsichtsmassregeln, durch welche der Wage ihre Empfindlichkeit erhalten bleibt. Die Wage ist stets arretirt zu halten ausser in der einzelnen Probe beim Wägen selbst. Während des Auflegens der zu wägenden Gegenstände und Gewichte darf die Arretirung nie gelöst sein.

Feine chemische Wagen befinden sich stets in einem Glaskasten und die vordere Thür soll bei der Wägung, wenn es angeht, nicht geöffnet werden, die seitlichen Thüren nur bei arretirter Wage. Die Gefässe, in denen Substanzen gewogen werden, sollen möglichst leicht sein und die Grösse der Totalbelastung der Wage darf sich möglichst wenig der grössten erlaubten Belastung (gewöhnlich 100 bis 200 Grm.) nähern; ist letzteres unvermeidlich, so ist die Arretirung besonders behutsam und nur auf kurze Zeit zu lösen.

Die Gewichte dürfen nur mit der Pincette, nie mit den Fingern gefasst und transportirt werden. Es ist zweckmässig, die Gewichte stets auf die eine, die zu wägende Substanz auf die andere Wagschale zu legen. Hat man die Wägung beendet, so addire man zunächst nach den fehlenden Gewichten im Gewichtskasten das Gewicht der Substanz und controlire dann, indem man vorsichtig die Gewichte von der Wagschale abnimmt und in ihr Kästchen zurückbringt. Die Belastung darf auf der Wage nicht längere Zeit stehen bleiben, am Wenigsten einseitige Belastung.

Die Gefässe sind vor dem Wägen sorgfältig zu trocknen, dürfen

aber erst nach vollständiger Abkühlung gewogen werden. Heisse Körper erscheinen wegen der an ihnen aufsteigenden erwärmten Luftströme leichter als sie sind.

Flüchtige Stoffe, auch Wasser enthaltende Körper, sowie hygroskopische vorher getrocknete Substanzen dürfen nur in verschlossenen Gefässen gewogen werden (vergl. § 7).

Grössere Lasten wägt man am Genauesten auf den grossen Präcisionswagen von Rüprecht in Wien. Will man auf Decimalwagen die möglichste Genauigkeit erreichen, so verfährt man nach dem Princip der indirecten Wägung, welches bei sehr accuraten Wägungen auf feinen chemischen Wagen gleichfalls häufig in Anwendung gezogen wird; man wägt erst den zu wägenden Körper, entfernt nach der Arretirung der Wage letzteren und setzt an seine Stelle Gewichte, bis diese denen der anderen Schale das Gleichgewicht halten.

Bestimmung des spec. Gewichts von Flüssigkeiten durch Aräometer.

14. Ein fester Körper in eine Flüssigkeit gebracht, sinkt in derselben, wenn er geringeres spec. Gewicht besitzt, soweit ein, bis das Gewicht des durch ihn verdrängten Flüssigkeitsvolumen gleich seinem Gewichte ist. So giebt nun auch die Tiefe des Einsinkens des Aräometer an, ein wie grosses Volumen der Flüssigkeit verdrängt werden muss, um dem constant bleibenden Gewichte des ganzen Aräometer die Wage zu halten.

Man bestimmt den Grad des Einsinkens nach der Scala, welche die Spindel des Aräometer trägt, indem man das Instrument in eine Flüssigkeit, welche mindestens so tief als das Aräometer hoch und etwas breiter als der Durchmesser des Körpers vom Aräometer ist, vorsichtig einsinken und darin schwimmen lässt. Die Scala eines zweckmässig eingerichteten Aräometer giebt dann direct das spec. Gewicht der Flüssigkeit an, wenn man untersucht, bei welchem Theilstrich der Scala das Niveau der Flüssigkeit die Spindel des schwimmenden Aräometer schneidet.

Ist das Aräometer an der Oberfläche fettig, so hängen sich Luftblasen an den eingetauchten Theil und heben es, oder Flüssigkeitstropfen an den das Niveau überragenden Theil der Spindel und drücken es hinab. Beide Fehler sind zu vermeiden, auch darf das Instrument während des Ablesens die Wandung des Gefässes nicht berühren.

Die zur Untersuchung des Harns gebräuchlichen Aräometer, Uro-

meter oder Urinprober genannt, erlauben wegen des geringen Durchmessers ihrer Spindel genauere Bestimmung des spec. Gewichtes als die gewöhnlichen Aräometer; man kann an ihnen die dritte Decimalstelle des spec. Gewichts noch direct ablesen.

Die käuflichen zu Harnuntersuchungen bestimmten Aräometer sind vielfach unrichtig. Man hat zunächst darauf zu sehen, dass die Spindel möglichst genau cylindrisch ist und die Zwischenräume zwischen den einzelnen Theilstrichen nicht einander gleich sind, sondern sich umgekehrt verhalten, wie die spec. Gewichte, welche die angrenzenden Theilstriche anzeigen. Man prüft die Richtigkeit des Aräometer, indem man es im destillirten Wasser schwimmen lässt und dann in einer spec. schweren Flüssigkeit, deren spec. Gewicht man mit einem corrigirten Aräometer oder mit dem Pycnometer (vergl. den folgenden § 15) bestimmt hat. Wenn die Temperatur der Flüssigkeiten in Berücksichtigung gezogen ist, lässt sich dann die Richtigkeit des Instrumentes sicher ermessen.

Die Aräometerspindeln sind gewöhnlich für Flüssigkeiten von 15 bis 17° angefertigt und eine Correction ihrer Angabe dann nur nöthig, wenn die Temperatur der mit ihnen untersuchten Flüssigkeiten hiervon mehr als einige Grade abweicht. Ist dagegen das Aräometer für Flüssigkeiten von 0 oder 8° bestimmt, so wird bei vielen Untersuchungen mit demselben die Correction nöthig, die man ausführt, indem man das abgelesene spec. Gewicht der Flüssigkeit durch das spec. Gewicht des Wassers bei dieser Temperatur dividirt (vergl. im Anhange Tabelle I. Columne B.); wäre z. B. bei 22° an einem solchen Instrumente das spec. Gewicht 1,043 abgelesen, so würde die Correction dies in $\frac{1,043}{0,99801} = 1,045$ umändern.

Bestimmung des spec. Gewichts von Flüssigkeiten im Pycnometer.

15. Im Pycnometer bestimmt man das Gewicht eines abgemessenen Volumen Flüssigkeit und berechnet das spec. Gewicht durch Vergleichung dieses Gewichts mit dem eines gleichen Volumen destillirten Wassers von derselben Temperatur. Diese Methode der spec. Gewichtsbestimmung ist die genaueste, besonders wenn man die Untersuchung mit dem von Geissler construirten Fläschchen, welches mit einem Thermometer versehen ist, vornimmt.

Zur Ausführung dieser Bestimmung ist zuerst das Gewicht des leeren und trockenen Pycnometer zu ermitteln, dann ist dasselbe mit

ausgekochtem destillirten Wasser ganz zu füllen, etwaige Luftbläschen schnell zu entfernen, das Thermometer einzusetzen, die Oberfläche des Fläschchens mit Leinwand und Papier (nöthigenfalls nach Abspülen mit Wasser) schnell zu trocknen, ohne es hierbei mit der Hand zu erwärmen, endlich die Kappe auf das Capillarröhrchen aufzusetzen und zugleich die Temperatur am Thermometer abzulesen, ein etwa herabgelaufener Tropfen abzutrocknen und nun zu wägen. Man giesst dann das Wasser aus und trocknet das Fläschchen, Thermometer u. s. w. sorgfältig, füllt das Fläschchen mit der Flüssigkeit, deren spec. Gewicht bestimmt werden soll, in der angegebenen Weise, setzt das Thermometer ein, trocknet aussen gut ab, setzt die Kappe auf das Capillarrohr, liest die Temperatur ab und wägt. Zieht man das Gewicht des Pycnometer von den beiden gefundenen Gewichten, 1) des Pycnometer mit Wasser und 2) des Pycnometer mit Flüssigkeit ab, so erhält man die Gewichte gleicher Volumina von Wasser und von der zu untersuchenden Flüssigkeit und wenn beide Bestimmungen bei derselben Temperatur vorgenommen waren, so giebt das Gewicht der Flüssigkeit dividirt durch das Gewicht des gleichen Volumen Wasser das spec. Gewicht jener Flüssigkeit. Meist werden jedoch die Füllungen und Wägungen des Pycnometer mit Wasser und mit den zu untersuchenden Flüssigkeiten bei verschiedenen Temperaturen vorgenommen, und das Gewicht des Wassers, welches das Pycnometer füllt, ist entsprechend den Temperaturen, bei denen das Gewicht der Flüssigkeiten bestimmt wurde, zu corrigiren. Ist z. B. das Gewicht des Wassers, welches das Pycnometer bei 21° füllt, zu 24,1080 Grm. gefunden und ferner das Gewicht einer Flüssigkeit, welches das Pycnometer bei 12° füllt, bestimmt, so ist zunächst zu berechnen, wie gross das Gewicht Wasser ist, welches das Pycnometer bei 12° füllen würde. Tabelle I. Col. B. im Anhange giebt die spec. Gewichte des Wassers für die verschiedenen Temperaturen; bei 21° ist dasselbe 0,998228, bei 12° dagegen 0,999686, hiernach ist das Gewicht des Wassers, welches bei 12° das Pycnometer füllen würde, $= \frac{0,999686}{0,998228} \cdot 24,1080 = 24,1432$. Durch dies Gewicht sind nun die Gewichte der bei 12° dieses Pycnometer füllenden Flüssigkeiten zu dividiren und die spec. Gewichte der letzteren zu erhalten. Es ist selbstverständlich, dass mit dem Pycnometer auch die Gewichte von festen Körpern oder von Gemengen, z. B. Flüssigkeiten, welche feine Theilchen suspendirt enthalten (Harne mit Sedimenten, Milch, Blut

u. s. w.) ermittelt werden können. — Sehr genaue Bestimmung des spec. Gewichtes von Flüssigkeiten erreicht man auch mittelst eines von Sprengel angegebenen Apparates, vergl. Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen etc. Braunschweig 1879. S. 135, vergl. hier auch die Angaben über die für möglichst genaue Bestimmungen erforderlichen Correctionen.

Die hydrostatische Wage und das Nicholson'sche Aräometer geben zwar für klare Flüssigkeiten genaue Resultate; doch ist ihr Gebrauch meist umständlich. Für trübe Flüssigkeiten, wie Blut, Milch, Eiter sind weder Aräometer noch die eben genannten Instrumente anwendbar zur Bestimmung des spec. Gewichts dieser Flüssigkeit im Ganzen.

---

3. Optische Untersuchungsmethoden.

Spectral-Untersuchungen.

Der Spectralapparat.

16. Die Untersuchungen von Kirchhoff und Bunsen über die charakteristischen discontinuirlichen Spectra glühender Dämpfe der Alkalien und alkalischen Erdmetalle, die grossartigen Resultate, zu welchen die Vergleichung dieser Spectra mit den Frauenhofer'schen Linien des Sonnenspectrum geführt hat, sowie die Auffindung mehrerer bis dahin unbekannt gebliebener Metalle durch das Licht, welches ihr glühender Dampf aussendet, haben das Interesse der Physiker und Chemiker in so hohem Grade in Anspruch genommen, dass man fast auf allen Gebieten der chemischen Forschung mit diesem neuen schnell bewährten Hülfsmittel neue Thatsachen zu ermitteln trachtet.

Die zu diesen Untersuchungen dienenden Apparate haben schnell mannigfache Vervollkommnung erhalten. Fig. 2 (siehe folgende Seite) stellt einen grösseren Spectralapparat dar. Er besteht im Wesentlichen aus vier Theilen: 1) einen durch eine Schraube weiter oder enger stellbaren Spalt *a*, angebracht an einem Ende des Tubus, dessen anderes Ende *b* den Collimator, eine achromatische Linse, in deren Brennpunkt sich der Spalt befinden soll, trägt; 2) das durch den Spalt eintretende Licht wird durch den Collimator parallel gemacht und auf das Prisma *c* geworfen; 3) in diesem Prisma gebrochen und

in das Spectrum aufgelöst treten die Lichtstrahlen in das astronomische Fernrohr *de* ein, welches gewöhnlich 6—8malige Vergrösserung hat, und gelangen von da bei *f* zum Auge des Beobachters; 4) am Kopfe des Rohres *gh* bei *h* befindet sich eine feine durch eine Lampe zu

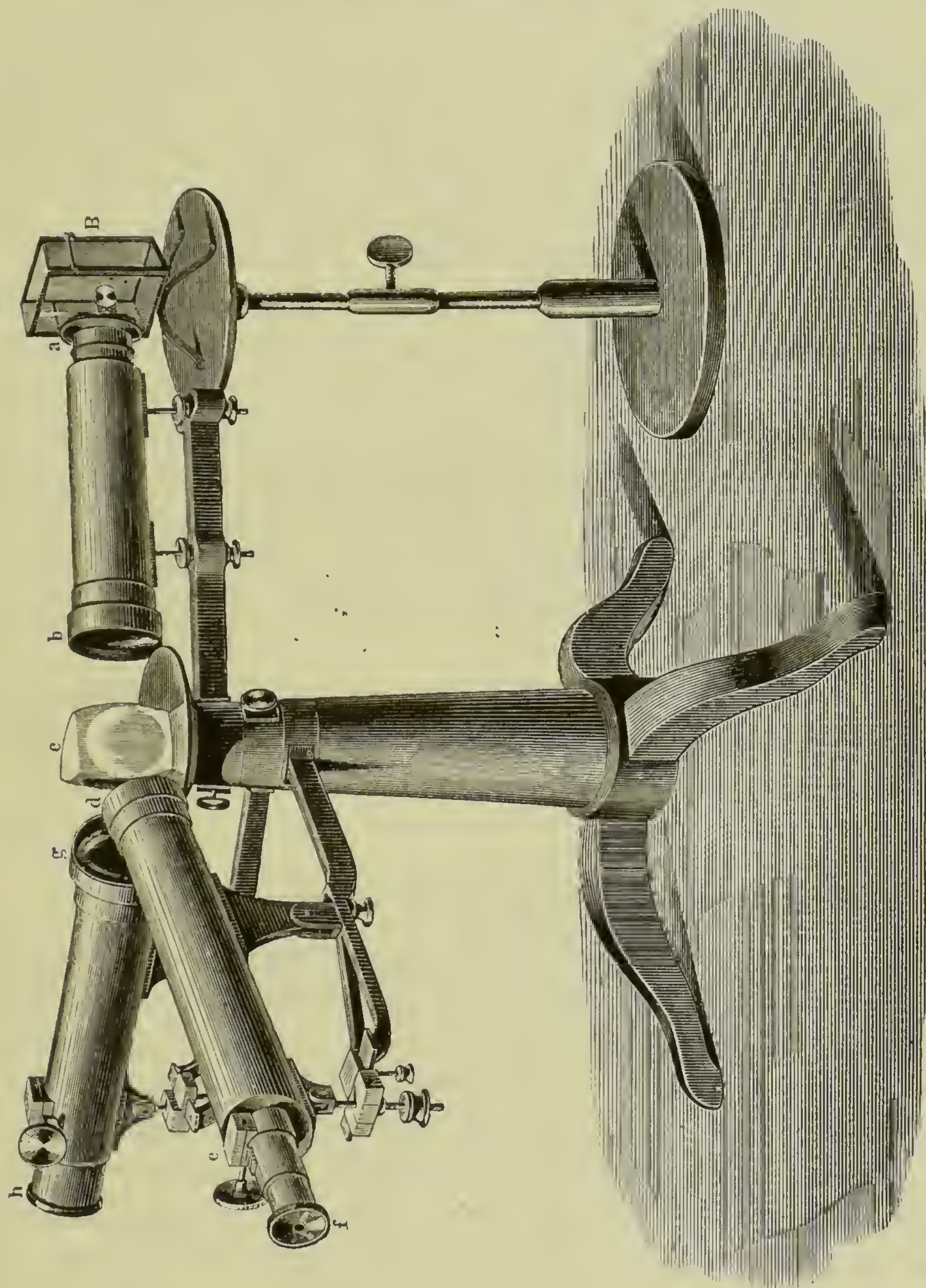


Fig. 2.

beleuchtende photographirte Scala auf Glas. Ist diese beleuchtet, so stellt ihr Bild von der dem Fernrohre zugekehrten Fläche des Prisma *c* als Spiegel reflectirt sich dem Auge des Beobachters bei *f* dar und zwar horizontal das Gesichtsfeld im Fernrohre theilend.

Neuerdings sind zuweilen 2 oder mehr Prismen im Spectralapparate combinirt angewendet, um eine grössere Dispersion des Spectrum zu erhalten. Für physiologisch-chemische Untersuchungen ist diese Verbreiterung des Spectrum wohl fast immer ohne Nutzen, insbesondere bei Untersuchung der Absorption der Lichtarten durch Farbstoffe. Hat das Prisma eine Neigung seiner Flächen von etwa 60° und besteht es aus hinreichend stark lichtzerstreuendem Glase, so wird es für jetzt allen Anforderungen für physiologisch-chemische Zwecke genügen, und sowohl starke Dispersion durch mehrere Prismen als stark vergrössernde Fernröhre sind durchaus zu vermeiden, da sie die Absorptionen des Lichtes in Flüssigkeiten weniger scharf zeigen, auch leuchtende Linien von glühenden Metalldämpfen wegen Lichtschwäche oft übersehen lassen, während man dieselben mit schwachem Fernrohre und einem Prisma noch ganz deutlich erkennt.

Um den Apparat richtig einzustellen, entfernt man zunächst das Prisma *c* und sieht in der Richtung von *b* nach *a* durch das erste Rohr bei mässig geöffnetem Spalte; man zieht nun das Rohr mit dem Spalte so weit aus, bis die Ränder des letzteren ganz scharf begrenzt erscheinen, dann stellt man das Fernrohr *de* so ein, dass man sehr weit entfernte Gegenstände recht deutlich dadurch erkennt, setzt darauf das Prisma wieder an seine Stelle und schiebt bei Beleuchtung der Scala *h* diese mit ihrem Rohre so weit ein, bis die Theilung der Scala bei der Beobachtung durch das Fernrohr möglichst scharf erkannt wird.

Für die meisten physiologischen Zwecke sind die Browning'schen Taschenspectroscope vorzuziehen, besonders wo es sich um Untersuchung von Farbstoffen handelt.

Untersuchung von Farbstoffen mit dem Spectralapparate.

17. Die zu prüfenden Farbstoffe sind in womöglich concentrirter Lösung in ein Gefäss mit zwei planparallelen Wandungen aus Spiegelglas zu bringen; Fig. 2 auf S. 19 stellt ein solches Gefäss *B* vor dem Spectralapparate dar. Zur Untersuchung der Flüssigkeit stellt man den mit einem schwarzen Tuche überdeckten Spectralapparat so auf, dass entweder directes Sonnenlicht von einem Heliostaten oder starkes zerstreutes Tageslicht oder das Licht einer hellbrennenden Oellampe in das Spectrum zerlegt im Fernrohre möglichst hell sichtbar wird; durch das Licht einer Kerze oder besser einer Oellampe mit Glascylinder beleuchtet man die Scala *h*, so dass auch deren Bild deutlich erkennbar sich mitten durch das Gesichtsfeld im Fernrohre hinzieht. Jetzt stellt man den mit der Farbstofflösung gefüllten Glaskasten dicht vor den Spalt, so dass das Licht senkrecht durch die Glas-

platten dieses Gefässes und die enthaltene Flüssigkeitsschicht hindurchgeht, ehe es in den Spalt eintritt. Beobachtet man dann das Spectrum durch das Fernrohr, so wird ein grösserer oder geringerer Theil desselben fehlen, und es ist mittelst der Scala leicht zu bestimmen, welche Theile desselben durch die Lösung abgehalten werden. Verdünnt man darauf die Farbstofflösung mit Wasser oder einem anderen farblosen Lösungsmittel, so werden bei wiederholter Untersuchung neue Partien des Spectrum sichtbar werden und bei weiter fortgesetzter Verdünnung wird allmälig das ganze Spectrum sich entfalten. Es zeigt sich nun hierbei, dass nur einige Farbstoffe bei weiterer Verdünnung ihrer Lösungen das Spectrum allmälig allseitig oder einseitig weiter und weiter sich entwickeln lassen, während eine grosse Anzahl von Farbstoffen und gerade diejenigen, welche die lebhaftesten Farben zeigen, bei der Verdünnung ein discontinuirliches Spectrum erscheinen lassen, indem sie für bestimmte Stücke des Spectrum sehr kräftige und für nahe dabeiliegende Spectralabschnitte sehr schwache absorbirende Kraft besitzen. Bei gewissen Verdünnungen erscheinen dann ein oder mehrere schmale oder breitere Absorptionsstreifen, auch Spectralbänder genannt, deren Lage und Ausdehnung durch die Scala am Einfachsten bestimmt und mit den Fraunhofer'schen Linien des Sonnenspectrums verglichen werden können.

Spectrophotometrie. Die Untersuchung im Spectrum in der geschilderten Weise giebt vorzügliche Resultate für den sicheren Nachweis einer grossen Zahl von Farbstoffen, besonders des Blutfarbstoffes und einiger seiner Zersetzungsproducte, des Indigo, Chlorophyll, man hat aber auch in neuerer Zeit vielfach das Spectrum für quantitative Farbstoffbestimmungen verwerthet und zu diesem Zweck verschiedene Combinationen von Apparaten benutzt. Hauptsächlich sind hier die Arbeiten von Vierordt*) und von Hüfner**) zu erwähnen, durch welche diese Apparate vervollkommnet sind. Das Verfahren ist im Wesentlichen folgendes: Zwischen eine constante Lichtquelle und den Spalt des Spectroscopes wird die zu untersuchende Farbstofflösung so eingefügt, dass die untere Hälfte des Spaltes Licht erhält, welches durch die Farbstofflösung gegangen ist, während die obere Hälfte Licht erhält, welches nicht durch dieselbe gewandert ist. Von beiden wird im Spectroscope ein Spectrum entworfen, von dem aber durch einen am Kopfe des Fernrohrs angebrachten Spalt nur ein ausgewählter enger Abschnitt zum Auge des Beobachters gelangt, so dass man nahezu einfarbiges Licht sieht, die eine Hälfte

*) K. Vierordt, Die Anwendung des Spectralapparates zur Photometrie der Absorptionsspectren etc. Tübingen 1873. Derselbe, Die quantitative Spectralanalyse etc. Tübingen 1876.

**) Hüfner, Journ. f. pract. Chemie. N. F. Bd. 16. S. 290.

ungeschwächt, die andere entsprechend der Absorptionswirkung des Farbstoffs verdunkelt. Es wird nun die ungeschwächte Hälfte entweder durch Vorschieben von Rauchglas oder Drehung eines im Fernrohr gelegenen Nicol (das Licht ist für diesen Fall in der betreffenden Hälfte durch Reflexion polarisirt) und dergl. soweit verfinstert, bis die Lichtintensität beider Hälften des Spectralabschnitts möglichst gleiche Helligkeit besitzt, und nun an der Scala abgelesen, in welchem Grade eine Lichtwegnahme hierzu hat ausgeführt werden müssen, · eine Messung, welche sich durch Drehung des Nicol bei genauer Aufstellung desselben innerhalb gewisser Grenzen ziemlich gut ausführen lässt. Es werden für die Bestimmung dieser Werthe besonders die Abschnitte im Spectrum ausgesucht, in denen die zu bestimmenden Farbstoffe kräftige Lichtabsorptionen zeigen. Mancherlei Schwierigkeiten stehen jedoch auf diesen Wegen einer genauen Bestimmung noch entgegen. Bunsen und Bahr*), welche zuerst dies Gebiet betraten, nennen die Methode wenig exact, sehr entschieden erweisen die Mängel derselben die Arbeiten von Wroblewski**). Da es sich bei diesen Bestimmungen lediglich um Gleichstellung der Helligkeit handelt, ist überhaupt nicht wohl einzusehen, welchen Nutzen das Spectroscop, d. h. die Beschränkung der Absorptionsmessung auf einen schmalen Spectralabschnitt leisten soll. Bei constanter Belichtung wird ohne Spectroscop die Gesammtheit der Lichtabsorptionen und hiermit der Gehalt an Farbstoff mindestens ebenso genau als mit Hülfe des Spectrums in einem schmalen Streifen desselben bestimmt werden können. Theoretisch würde nur auf spectrophotometrischem Wege die Bestimmung mehrerer Farbstoffe neben einander in einer und derselben Lösung ausgeführt werden können, aber auch nur unter der Bedingung, entweder dass jeder derselben in einem besondern Spectralabschnitt kräftige Absorption ausübte, in denen sämmtliche übrigen nur wenig Licht absorbirten und nun in jedem dieser Abschnitte Bestimmungen der Absorption ausgeführt würden, oder 2) dass bis auf die in solchen Abschnitten bestimmbaren Farbstoffe die übrigen auf anderen Wegen bestimmt werden könnten. Diese Bedingungen sind aber meines Wissens noch in keiner Lösung vollkommen erfüllt gefunden; sie sind speciell weder in der Galle noch im Harn vorhanden, am besten im venösen Blute.

Untersuchung der Aschen mittelst des Spectrum.

18. Alle organischen Bestandtheile des Thierkörpers geben in der Spiritusflamme oder der Flamme des Bunsen'schen Brenners verbrannt Licht, welches durch den Spectralapparat in ein continuirliches Spectrum, wie es der Kohlenstoff selbst bei mässiger Glühhitze liefert, zerlegt wird. Nur die Aschenbestandtheile zeigen ein charakteristisches Verhalten, wenn man dieselben von Kohle sorgfältig gereinigt in die Flamme bringt und das von ihnen ausgehende Licht prüft.

Das zum Oehr umgebogene Ende eines feinen Platindrahtes wird

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 137. S. 30.

**) Ann. Physik u. Chemie. N. F. Bd. 13. S. 616.

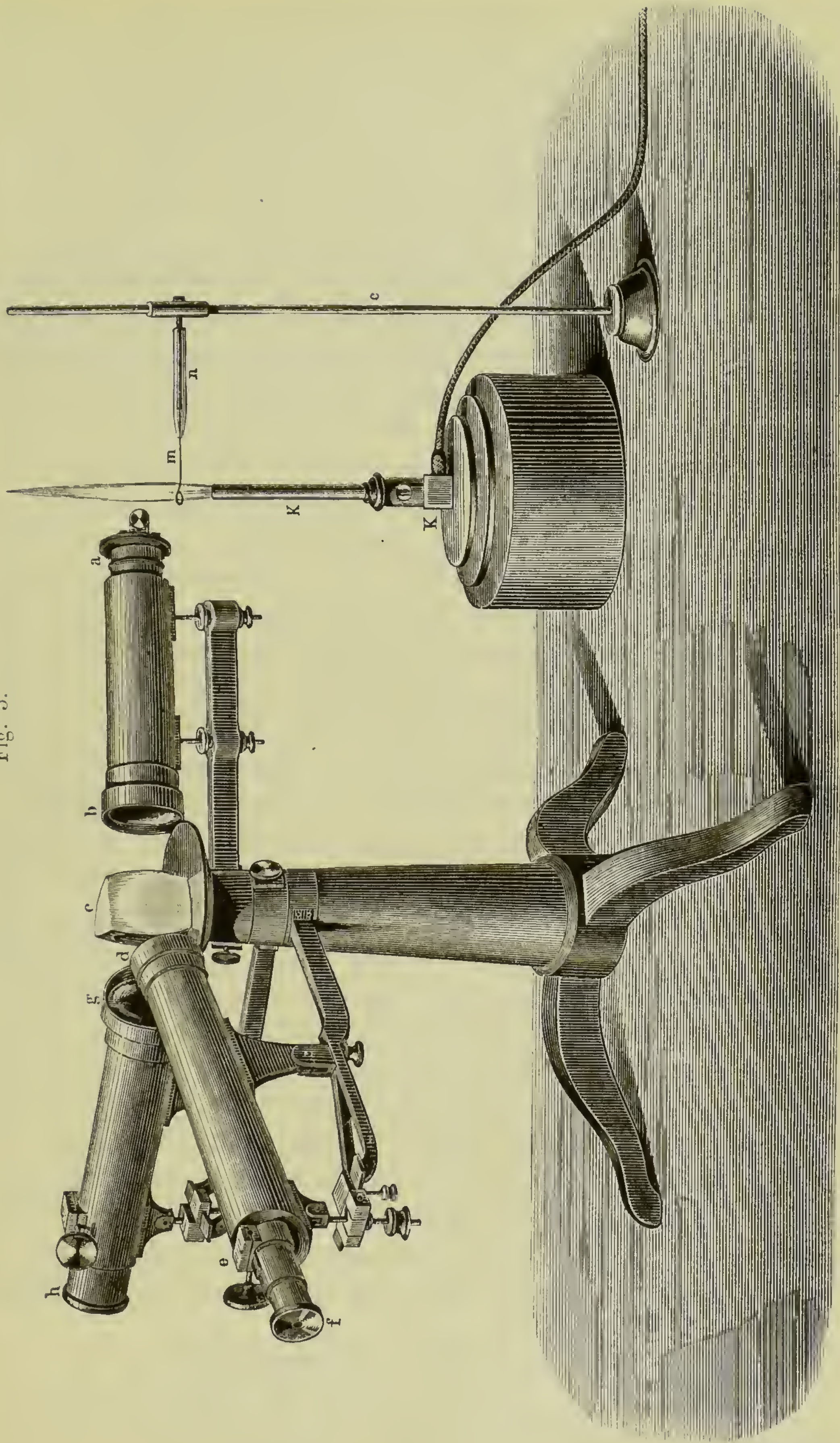


Fig. 3.

erst in der Flamme des Brenners ausgeglüht, bis es keine leuchtende Flamme mehr ausgiebt, dann schmilzt man in das Oehr eine Perle von der Asche ein, indem man mit dem befeuchteten Drahte etwas von der Asche aufnimmt und an der Oberfläche der Flamme trocknet und etwas sintern lässt. Man stellt nun, wie es Fig. 3 zeigt, vor dem Spalte *a* des Spectralapparates etwa 5 bis 10 Cm. davon entfernt einen Bunsen'schen Gasbrenner *kk* mit nicht leuchtender Flamme und mit Schornstein versehen so auf, dass 1) die obere Grenze des Schornsteins etwa 2 bis 3 Cm. tiefer als das untere Ende des Spaltes steht und 2) bei verschlossenen Luftlöchern des Brenners (also hellem Leuchten seiner Flamme) ein möglichst strahlendes Spectrum im Fernrohre sichtbar ist. Man öffnet wieder die Luftlöcher am Brenner, nachdem man die richtige Stellung desselben ausfindig gemacht hat, beleuchtet die Scala in *h* am Spectralapparate und bringt nun die Aschenprobe am Platindrahte *m*, welche durch ein Glasröhrchen *n* am Stative *c* befestigt ist, in die Flamme, während man durch das Fernrohr beobachtet. Es wird in allen Fällen ein discontinuirliches Spectrum erscheinen, welches stets mehr oder weniger stark leuchtend die gelbe Natriumlinie enthält. Fast in allen Fällen wird sich daneben auch die rothe Kaliumlinie zeigen. Man bestimmt nun die Lage der vorhandenen Linien nach der Scala und findet dann die Lage dieser Linien im Sonnenspectrum, wenn man Sonnenlicht an Stelle des Brennerlichtes in den Apparat eintreten lässt und die Lage der Fraunhofer'schen Linien an der Scala des Apparates abliest. Statt dessen kann man reines Chlorkalium, Chlorcalcium u. s. w. jedes für sich am reinen Platindrahte in die Flamme des Brenners bringen, die Lage der erscheinenden Linien auf der Scala notiren und damit die Ergebnisse der Aschenprüfung vergleichen.

An vielen Spectralapparaten befindet sich vor der oberen Hälfte des Spaltes ein dieselbe deckendes kleines Prisma, welches gleichzeitige Beobachtung einer zweiten, seitlich gestellten Flamme oder des Sonnenlichtes gestattet, indem deren Strahlen durch das Prisma gebrochen in den Spalt eintreten und im Uebrigen denselben Weg verfolgen, als die der ersteren Flamme: Es erscheint dann das Spectrum der einen Flamme über, das der anderen unter der Scala.

Untersuchung der Circumpolarisation.

19. Während kein einziger in einer Flüssigkeit gelöster oder selbst flüssiger unorganischer Körper Circumpolarisation zeigt und

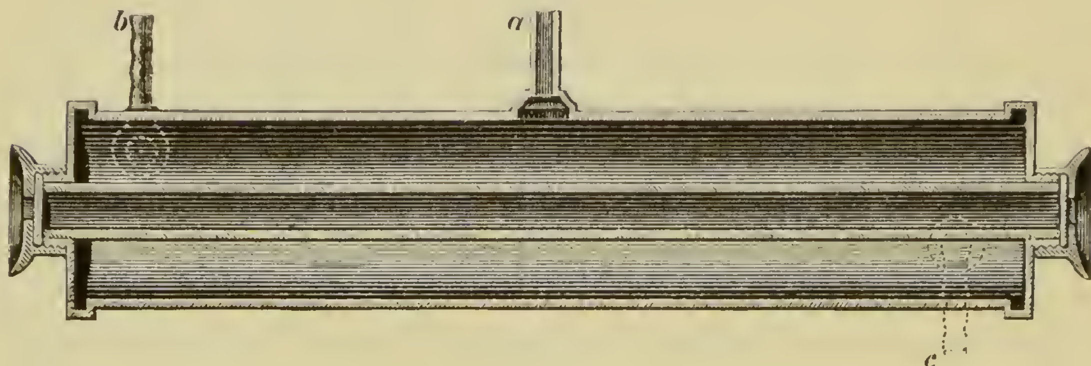
unter den organischen Stoffen von einfacherer Zusammensetzung nur sehr wenige (z. B. Baldriansäure, Amylalkohol) diese Eigenschaft in geringem Grade besitzen, findet man unter den organischen Stoffen von hohem Moleculargewichte, welche theils die thierischen Gewebe constituiren, theils die hauptsächlichsten Bestandtheile der thierischen Säfte bilden, eine sehr grosse Anzahl circumpolarisirender Körper (Zuckerarten, Leim, Eiweissstoffe etc.). Hat man somit einerseits durch die Beobachtung der Circumpolarisation ein schnell anwendbares Mittel, um über die Anwesenheit oder das Fehlen gewisser Gruppen von Stoffen in den zu prüfenden Flüssigkeiten Aufschluss zu erhalten, so ergiebt ferner die Bestimmung der spec. Drehung eines Körpers unter dem Einflusse gewisser Agentien auf diesen Körper eins der sichersten und feinsten Hülfsmittel zur Unterscheidung chemischer Stoffe von einander, sowie zur Beurtheilung der Veränderungen, welche diese Körper unter der Einwirkung gewisser Processe erfahren. Endlich dient die Bestimmung der Circumpolarisation zur schnellen Feststellung des Gehaltes einer Flüssigkeit an dem einen oder anderen Körper, als: Harnzucker, Albumin. Die Beobachtung der Circumpolarisation erfordert kaum eine Minute Zeit und bedingt bei einiger Vorsicht keinen Verlust der zu prüfenden Flüssigkeit.

Ein Haupterforderniss für diese Untersuchung ist, dass die Lösungen klar, durchsichtig und möglichst farblos sind; schwach gelbe Färbung thut keinen erheblichen Eintrag an Genauigkeit, wohl aber rothe oder braune Färbung. Die einzelnen zur Entfärbung und Klärung anwendbaren Agentien werden bei den einzelnen Untersuchungen auf Harnzucker, Gallensäuren, Albumin angegeben werden.

Mit der zu prüfenden Lösung füllt man die Untersuchungsröhre, deren Länge man nach der Klarheit und Tiefe der Färbung der Flüssigkeit auswählt. Da die Bestimmung um so genauer ausfällt, je länger die vom Lichte durchwanderte Flüssigkeitsschicht ist, wählt man eine Röhre von möglichster Länge, nach deren Füllung aber beleuchtete Gegenstände beim Hindurchsehen durch die Flüssigkeitsschicht in der Röhre scharf unterschieden werden können. Röhren von 2, 1 und $^1/_2$ Decimeter Länge des in der Röhre eingeschlossenen Raumes sind die gewöhnlich zu diesen Untersuchungen benutzten und zweckmässigsten. Fig. 4 stellt ein solches Rohr im Durchschnitte dar. Die Kappen aus Metall, welche auf die Enden der Röhre aufgeschraubt sind, haben eine mindestens 5 Mm. weite runde Durchbohrung und drücken durch einen eingelegten Kautschukring eine runde Glasplatte

gegen den gerade abgeschliffenen Rand der Röhre; sie dürfen nicht zu fest aufgeschraubt werden. Das mit der Flüssigkeit zu füllende Rohr ist umgeben von einem wasserdicht aufgesetzten weiten Rohr,

Fig. 4.



in welches bei *a* ein Thermometer eingesetzt wird. Um bei bestimmter Temperatur die Beobachtung ausführen zu können, lässt man Wasser von der gewünschten Temperatur bei *b* ein- und bei *c* austreten durch angefügte Kautschukschläuche.

Als Lichtquelle für diese Beobachtungen dient am Besten eine mit Rüböl oder Steinöl gespeiste Lampe, da Gasflammen meist weniger ruhig brennen; wenn, wie bei Wild's Polaristrobometer und Halbschattenapparaten, einfarbiges Licht für die Untersuchung erforderlich ist, dient ein Bunsen'scher Gasbrenner mit sehr schwach leuchtender Flamme, in welcher Soda oder Kochsalz erhitzt wird und gelbes Natriumlicht liefert. Um nach allen übrigen Seiten als der dem Circumpolarisationsapparate zugekehrten das Licht abzuhalten, umgiebt man die Flamme und Glascylinder noch mit einem aussen geschwärzten Thoncylinder oder Schornstein von Eisenblech, welcher nur durch einen runden seitlichen Ausschnitt Licht in den Polarisationsapparat sendet*).

Polaristrobometer.

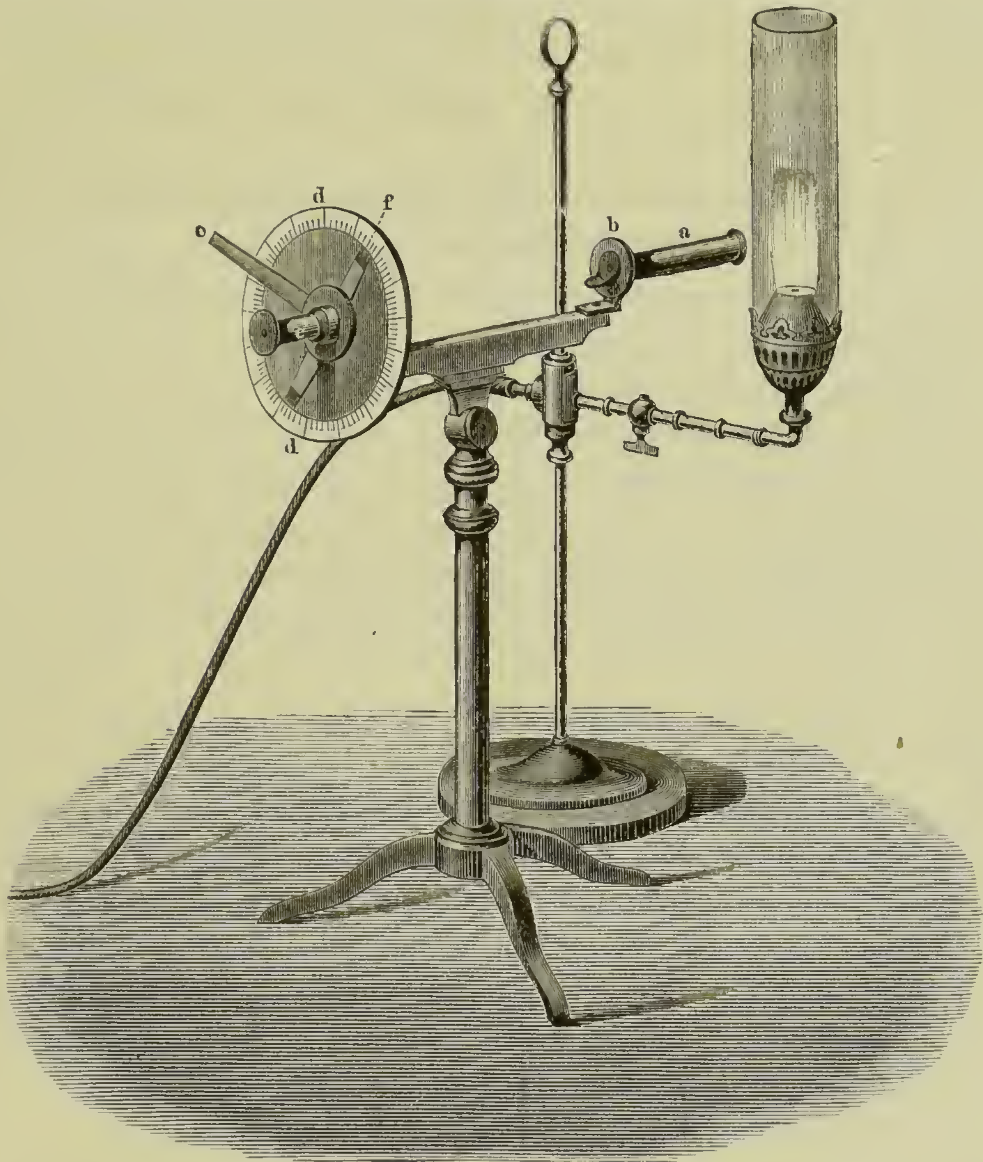
20. Von den verschiedenen Instrumenten, die zur Messung der Circumpolarisation des Lichtes angewendet sind, verdienen vor allen übrigen den Vorzug für physiologische und pathologische Zwecke 1) das Soleil'sche Saccharimeter, besonders für diese Zwecke modi-

---

*) Die Apparate und Untersuchungsmethoden der Circularpolarisation sind eingehend geschildert und die Apparate durch Abbildungen erläutert in H. Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen etc. Braunschweig 1879.

ficirt von Ventzke, 2) das Polaristrobometer von Wild, 3) die Halbschattenapparate. Viel einfacher, billiger, aber nur für gröbere Bestimmungen ausreichend ist das kleinere Instrument von Mitscherlich. Dies letztere besteht (Fig. 5) aus einem feststehenden Nicol'schen Prisma in *a*, einer planconvexen Glaslinse in *b* und einem drehbaren

Fig. 5.



Nicol'schen Prisma in *c*. Das erste Prisma polarisirt das Licht, mit dem zweiten untersucht man die Lage der Polarisationsebene des von der Linse kommenden Lichtes; das zweite Prisma befindet sich deswegen im Centrum eines in Grade getheilten Kreises *dd*, in welchem es mittelst einer Handhabe *e* wie die Axe in einem Rade gedreht werden kann. Ein am Prisma befestigter Zeiger *f*, wo möglich mit Nonius versehen, dient dazu, die Drehung des Prisma an der Kreistheilung beobachten zu lassen.

Zur Ausführung einer Beobachtung stellt man den Apparat mit dem Tubus, welcher das erste Prisma enthält, dicht an die Lampe, so dass das Licht durch das erste Nicol'sche Prisma, die Linse, das zweite Prisma und zum Auge des Beobachters an demselben gelangt. Ist der Apparat gut eingestellt, so wird ein verticaler schwarzer Streif das umgekehrte Bild der Flamme, welches die Mitte des Gesichtsfeldes einnehmen soll, in zwei gleiche Theile trennen, wenn der Zeiger an der Kreistheilung auf 0° oder 180° gestellt ist. Bei jeder anderen Stellung dieses Zeigers ist der schwarze Streif (das Zeichen, dass beide Nicols gekreuzte Stellung haben) entweder gar nicht oder wenigstens nicht in der Mitte des Gesichtsfeldes sichtbar. Man legt nun die mit der zu prüfenden Flüssigkeit gefüllte Röhre zwischen Linse und zweites Prisma so auf die dafür vorhandenen Träger, dass das Lampenlicht von der Linse kommend durch die Länge der Röhre zum zweiten Prisma und dem Auge des Beobachters gelangt. Ist auch jetzt noch der schwarze Streif in der Mitte des Gesichtsfeldes, während der Zeiger auf 0° steht, so ist die untersuchte Flüssigkeit nicht circumpolarisirend, ist er aber entweder seitlich verschoben oder bei keiner Drehung des zweiten Prisma aufzufinden, so ist im ersten Falle schwache, im zweiten starke Circumpolarisation damit erwiesen. Man wird dann nicht mehr allein Hell und Dunkel zu unterscheiden haben, sondern es tritt bei verschiedener Einstellung des zweiten Nicol farbiges Licht auf, dessen Färbung in bestimmter Folge mit der Drehung des Prisma sich ändert. Ist bei irgend einer Stellung des Prisma der schwarze Streif noch zu finden, so wird auf seiner einen Seite rothes, auf der anderen blaues Licht bemerkbar sein; man dreht das Prisma jetzt, bis der Streif wieder in der Mitte des Gesichtsfeldes steht, und liest ab, welche Stellung der Zeiger an der Gradeintheilung angiebt. Er zeigt in Graden ausgedrückt die durch die Flüssigkeit bewirkte Drehung für gelbes Licht an.

Ist aber der schwarze Streif bei keiner Stellung des analysirenden Nicol mehr zu finden, oder ist er breit und undeutlich, so dreht man das Prisma, bis der Uebergang des farbigen Lichtes aus Blau in Roth gerade in die Mitte des Gesichtsfeldes zu stehen kommt; es ist dann gleichfalls durch den Zeiger angegeben, wie gross die Drehung ist für gelbes Licht.

Besitzt die untersuchte Flüssigkeit eine gelbe, rothe oder bräunliche Farbe, so wird der dunkle Streif sehr breit sein, weil das violette und blaue Licht der beleuchtenden Flamme, welche an sich hinsicht-

lich der Intensität hinter dem gelben und rothen Lichte derselben weit zurückstehen, dann kräftig von der Flüssigkeit absorbirt werden, und nun an den Stellen kein Licht erscheinen, wo bei gleich stark circumpolarisirenden aber farblosen Flüssigkeiten violettes und blaues Licht aufgetreten wäre. In diesem Falle kann man die Bestimmung noch ziemlich genau machen, wenn man den an das rothe Licht angrenzenden Theil des dunklen Gebiets in die Mitte des Gesichtsfeldes stellt und nun an der Theilung des Kreises die von der Flüssigkeit bewirkte Drehung abliest. Auch hier gilt die angezeigte Drehung für gelbes Licht.

21. Die Benutzung dieser Beobachtung zur quantitativen Bestimmung von Zucker, Albumin u. s. w. wird weiter unten bei Abhandlung der Bestimmungsmethode dieser Körper für Harn, Blut u. s. w. auseinander gesetzt werden, hier mögen nur einige allgemeine Bemerkungen Platz finden. Die Circumpolarisation kann bekanntlich eine rechtsseitige oder linksseitige sein, man bezeichnet die erstere durch ein +, die zweite durch ein — vor der beobachteten Zahl der Grade. Eine rechtsdrehende Flüssigkeit bewirkt im obigen Apparate, dass der Beobachter das zweite Nicol'sche Prisma nach rechts drehen muss, um den schwarzen Streif oder den Uebergang aus Blau in Roth in die Mitte des Gesichtsfeldes zu bringen, wenn der Zeiger vorher auf 0° gestanden hatte; eine Linksdrehung erfordert den Nicol nach links zu drehen, um dasselbe hier zu erreichen. Ein starke Rechtsdrehung lässt die Farben in der Folge von Blau nach Roth beim Rechtsdrehen des Nicol erscheinen, bei starker Linksdrehung ist auch die Folge der Farben die gleiche beim Drehen des Nicol nach links.

Um die specifische Drehung eines Körpers zu bestimmen, ist eine Lösung erforderlich, die nur diesen einen circumpolarisirenden Körper enthält. Von dieser Lösung ist der Gehalt in Grammen ausgedrückt für 1 CC. Flüssigkeit zu ermitteln, ausserdem ist bei der Beobachtung die Temperatur und die Länge der Beobachtungsröhre zu bestimmen. Hat man nun von dieser Flüssigkeit nach den obigen Vorschriften die Drehung bestimmt und sie $= \alpha$ gefunden, war ferner die Länge des Beobachtungsrohres $= 1$ in Decimeter ausgedrückt, der Gehalt von 1 CC. Flüssigkeit an dem circumpolarisirenden Stoffe $= p$, so ist die spec. Drehung, d. h. die Drehung, welche 1 Grm. circumpolarisirender Substanz in 1 CC. Flüssigkeit gelöst bei 1 Decimeter Länge der Untersuchungsröhre für gelbes Licht bewirkt:

$$\text{I.} \qquad (\alpha)_j = \pm \frac{\alpha}{p\,l}$$

z. B. mit einer Flüssigkeit, welche 14,3 Grm. Substanz in 100 CC. oder 0,143 Grm. in 1 CC. Flüssigkeit enthält, sei eine 2 Decimeter lange Röhre gefüllt und man habe nach Einlegen derselben in den Polarisationsapparat den analysirenden Nicol 16° nach rechts drehen müssen, um den Uebergang aus Blau in Roth in die Mitte des Gesichtsfeldes zu bringen, so würde $\frac{16}{0{,}143.\ 2} = 55{,}94$ die spec. Drehung dieser Substanz für gelbes Licht, welche gewöhnlich durch das allgemeine Zeichen $(\alpha)_j$ ausgedrückt wird, sein. Für alle genaueren Untersuchungen ist es zweckmässig, zur Beleuchtung des Apparates die Flamme eines Bunsen'schen Brenners zu wählen, in welche eine Sodaperle am Platindraht eingebracht ist Die für Natriumlicht ermittelte spec. Drehung wird, da die Linie D des Sonnenspectrum dem Natriumlichte entspricht, mit $(\alpha)_D$ bezeichnet. Die für weisses Sonnenlicht gefundenen Werthe der Drehung sind stets höher als die für Natriumlicht gefundenen, wenn die circumpolarisirende Flüssigkeit nicht gelb gefärbt ist und somit die brechbareren Lichtarten absorbirt.

Bei derartigen Untersuchungen ist es zweckmässig, von der zu untersuchenden Substanz eine möglichst concentrirte Lösung anzufertigen, mit derselben ein möglichst langes Beobachtungsrohr zu füllen, die Circumpolarisation zu bestimmen und dann das Rohr in eine Schale oder ein Becherglas zu entleeren, mit dem Lösungsmittel einige Male nachzuspülen, die Flüssigkeit zur Trockne zu verdunsten und den festen Rückstand zu wägen. Hat man vorher durch Wägen 1, des trocknen leeren 2, des mit destillirtem Wasser gefüllten Rohrs das Volumen des Röhreninhaltes bestimmt, so giebt ein solches Rohr ein sehr genaues Maass für Flüssigkeiten zu derartigen Untersuchungen, und wenn v den Inhalt des Rohrs in Cubikcentimetern ausdrückt, p′ das Gewicht der darin enthaltenen circumpolarisirenden Substanz bezeichnet, so würde unter Benutzung der obigen Formel I. die spec. Drehung

$$\text{II.} \qquad (\alpha)_j = \pm \frac{v\,\alpha}{p'\,l}$$

sein.

Die in den Lehrbüchern angegebenen Formeln beziehen sich meist auf die Biot'sche Formel, welche unbequemer ist, da sie Bestimmung des spec. Gewichts der Flüssigkeit fordert, im Uebrigen jedoch mit obiger identisch ist.

Es ergiebt sich nun aus dieser Formel, dass, wenn man von einer circumpolarisirenden Substanz, die für alle Lösungsconcentrationen gleiche spec. Drehung besitzt (und andere kommen hier nicht in Betracht), bereits die spec. Drehung kennt, der Gehalt einer Flüssigkeit an dieser Substanz ohne Weiteres ermittelt wird durch die Beobachtung der Circumpolarisation, wenn man die Länge des Beobachtungsrohrs kennt und ausserdem sich überzeugt hat, dass nicht mehrere circumpolarisirende Körper in der Lösung sich befinden. Ist α die beobachtete Drehung und (α) die spec. Drehung, so ist $p = \frac{\alpha}{(\alpha)\,l}$ das Gewicht des die Drehung bewirkenden Stoffes in Grammen für 1 CC. Lösung. Am Einfachsten ge-

schicht diese Berechnung mittelst der Drehungsconstante $A = \frac{10^5}{(\alpha)}$ da diese mit dem beobachteten Drehungswinkel multiplicirt ohne Weiteres den Gehalt an dem activen Körper in 1 Liter Flüssigkeit angiebt, wenn die Länge der Flüssigkeitsschicht 100 Mm. beträgt.

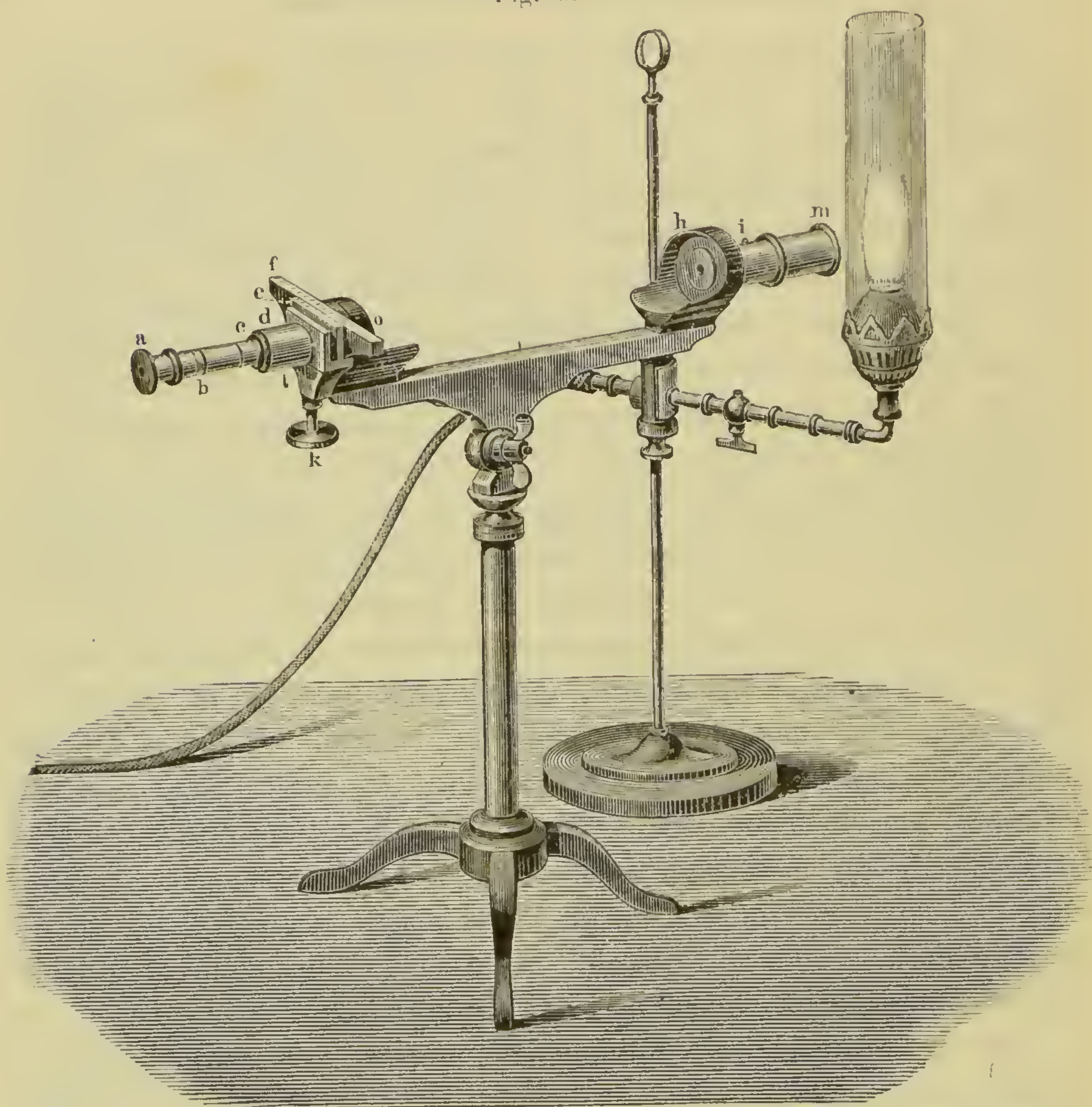
Das Soleil-Ventzke'sche Saccharimeter.

22. Das Soleil-Ventzke'sche Saccharimeter ist weit complicirter als der oben beschriebene Apparat von Mitscherlich, gestattet aber auch bei Weitem genauere Bestimmung des Gehaltes einer Flüssigkeit an einem circumpolarisirenden Körper, besonders wenn dasselbe nach der verbesserten Construction von Ventzke angefertigt ist. Es lässt sich dies Instrument auch zur Bestimmung der spec. Drehung sehr wohl benutzen, aber nur für schwache Drehungen ist es bei seiner gewöhnlichen Construction brauchbar. Fig. 6 erläutert dies Instrument. Es besteht im Wesentlichen aus einem Kalkspathkrystall unter *i*, 2 Nicol'schen Prismen *a* und *d*, das Prisma *a* ist um die Sehaxe des Apparates drehbar, das andere *d* ist als feststehend anzusehen. Ausserdem befinden sich im Instrumente Quarzplatten, alle senkrecht zur optischen Axe des Quarzkrystalls geschnitten und zwar der Soleil'sche Biquarz bei *h*, dessen eine Hälfte die Polarisationsebene eben so weit nach rechts als die andere nach links dreht. Bei *o* befindet sich eine das ganze Gesichtsfeld deckende Platte aus linksdrehendem Quarze, bei *e* und *f*, zwischen *o* und *d*, liegen seitlich horizontal verschiebbare oder vertical stehende Compensationsprismen aus rechtsdrehendem Quarze, welche durch Zahnstangen und ein Zahnrad mit Griff *k* so verschoben werden können, dass das den Apparat durchwandernde polarisirte Licht eine dickere oder dünnere Schicht von rechtsdrehendem Quarze passirt.

Bei einer bestimmten Stellung der Compensatoren wird die Linksdrehung der Platte bei *o* gerade compensirt und der scheinbare Effect auf das Licht ist = 0. Die Compensationsprismen tragen oben eine Scala und Nonius. Der 0-Strich des Nonius fällt mit dem der Scala zusammen, wenn gerade jene Compensation stattfindet, ohne dass eine andere die Polarisationsebene drehende Substanz in den Apparat eingeschaltet ist. Im Kopfe des Apparates befindet sich noch ein kleines Fernrohr *bc*, welches je nach der grösseren oder kleineren Entfernung zwischen *b* und *c* für jedes Auge das deutliche Sehen der Doppelplatte *h* vermittelt, wenn das Licht den Apparat von *m* nach *a* durch-

wandert und das Auge des Beobachters sich bei *a* befindet. Durch Drehung des Nicol'schen Prisma *a* um seine Axe erhält man verschiedene Helligkeit und Färbung des Gesichtsfeldes. Die Farben beider Hälften sind dagegen ungleich, wenn eine dieser Bedingungen nicht erfüllt ist.

Fig. 6.



23. Zur Ausführung von Bestimmungen der Circumpolarisation mit dem Saccharimeter stellt man letzteres, wie es Fig. 6 darstellt, so auf, dass der hellste Theil der Beleuchtungsflamme durch den Ausschnitt des Thoncylinders sein Licht in der Axe des Saccharimeter zum Auge des Beobachters sendet, indem man das Ende *m* des Apparates nahe vor das kurze Ansatzrohr des Thoncylinders bringt. Man dreht dann, während man durch den Apparat sieht, das Nicol'sche

Prisma *a* (nach richtiger Einstellung des Fernrohrs bis zum deutlichen Erscheinen der verticalen Linie der Doppelplatte) und sucht eine helle Farbe aus, welche die grösste Empfindlichkeit zeigt, d. h. deren geringste Aenderung durch das Auge wahrgenommen wird; ein helles Rosenroth wird diesem Zwecke meist am Besten entsprechen. Ist diese Farbe eingestellt, so dreht man durch Bewegung des Griffes *k* den Compensator hin und her, bis die Färbung beider Hälften des Gesichtsfeldes vollkommen gleich zu sein scheint. Dann beobachtet man, ob der 0-Strich der Scala mit dem 0-Strich des Nonius genau zusammenfällt, wiederholt diese Prüfung einige Male und überzeugt sich auf diese Weise, ob der 0-Punkt der Scala richtig ist. Ist man auf Grund mehrerer derartiger Proben überzeugt, dass der 0-Punkt nicht ganz richtig ist, so wird derselbe corrigirt, indem man bei genau auf 0 eingestelltem Compensator das Nicol'sche Prisma unter *d* mittelst eines hierzu bestimmten Schlüssels bei *l* hin und her dreht, bis die Färbung beider Gesichtshälften genau gleich geworden ist. Es ist diese Correction jedoch äusserst selten nöthig, der 0-Punkt erhält sich Jahre lang constant.

Man füllt nun eine Röhre (Fig. 4 S. 26) mit der vollkommen klaren zu prüfenden Flüssigkeit. Ist die Färbung derselben nicht allzu dunkel, so thut sie der Genauigkeit keinen wesentlichen Abbruch und macht auf keinen Fall eine Correction nöthig; sehr stark gelb oder gar roth gefärbte Flüssigkeiten geben keine guten Bestimmungen, da in ihnen Farbenunterschiede kaum noch zu erkennen sind und die Farben- und Helligkeitsgleichheit beider Gesichtsfeldhälften bei einer unrichtigen Compensatorstellung eintreten wird. Ziemlich dunkel gefärbte Flüssigkeiten lassen sich oft noch in kurzen Röhren gut untersuchen. Man fügt dann die gefüllte Röhre (ein kleines Luftbläschen, welches in der Röhre zurückgeblieben sein sollte, bringt keinen Nachtheil) zwischen *o* und *h* in den Apparat ein, sucht wieder die möglichst empfindliche Farbe durch Drehung das Nicol *a* und dreht durch Bewegung von *k* die Compensatoren, bis die Färbung beider Gesichtshälften völlig gleich ist. Ist dies erreicht, so liest man auf der Scala des Compensators ab. Steht der 0-Strich des Nonius rechts vom 0-Strich der Scala, so ist die untersuchte Flüssigkeit eine rechtsdrehende, steht er links vom 0-Strich der Scala, so ist sie eine linksdrehende, fallen endlich beide 0-Striche zusammen, so befindet sich in der untersuchten Flüssigkeit keine wahrnehmbare Quantität einer circumpolarisirenden Substanz, oder es sind Substanzen in Lösung,

von denen die Rechtsdrehung der einen die Linksdrehung der anderen gerade aufhebt.

Die Scala auf den Compensatoren zeigt für Zucker oder Albumin enthaltende Flüssigkeiten den Gehalt (in Grammen ausgedrückt für 100 CC. Flüssigkeit) an, wenn diese Flüssigkeiten nur einen dieser Körper enthalten und eine 1 Decimeter lange Röhre damit gefüllt im Apparate untersucht wird. Man liest also, nachdem man nach obiger Vorschrift die Farben beider Gesichtshälften gleich gemacht hat, ab, um wie viele Theile der Scala und des Nonius der 0-Strich des Nonius nach rechts (Zucker) oder nach links (Albumin) gerückt war, und dividirt diese Angabe durch die Länge der Röhre in Decimetern ausgedrückt, um ohne Weiteres den Zucker oder Eiweissgehalt der Flüssigkeit zu kennen. Da die spec. Drehungen der Albuminstoffe verschieden sind, entspricht die Scala links nur einem ideellen Mittel.

Es erfordert nur kurze Uebung, um die Einstellung der Farben beider Seiten des Gesichtsfeldes genau auszuführen, wenn das Auge des Beobachters überhaupt hinlängliche Empfindlichkeit für Farbenunterschiede besitzt. Man wiederholt die Bestimmung der Drehung einer Flüssigkeit mehrmals, indem man den Compensator wieder auf 0 stellt und während des Hindurchsehens unter Balanciren der Farben beider Gesichtshälften durch Hin- und Herschieben des Compensator genaue Gleichheit der Farbe wiederherstellt und auf der Scala abliest*).

Die spec. Drehung anderer Substanzen, als Traubenzucker, mittelst des beschriebenen Saccharimeters findet man bei Benutzung von Natriumlicht ungefähr durch die Formel

$$(\alpha)_D = \pm 53{,}1^0 \frac{a . 100}{p\, l}$$

worin a die an der Scala abgelesene Drehung, p das Gewicht der circumpolarisirenden Substanz in Grammen in 100 CC. Flüssigkeit und l die Länge der untersuchten circumpolarisirenden Flüssigkeitsschicht darstellt (+ 53,1° ist die spec. Drehung des Traubenzuckers).

Aus dieser Formel ergiebt sich dann weiter die Bestimmung des Gehaltes einer Flüssigkeit an anderen circumpolarisirenden Stoffen als Zucker und Albumin, wenn von diesen Stoffen nur einer in der Lösung sich befindet und seine spec. Drehung für gelbes Licht bekannt ist. $p = 53{,}1^0 . \frac{a}{(\alpha)_D\, l}$ giebt den Gehalt für 100 CC. Flüssigkeit an.

---

*) Der mittlere Beobachtungsfehler bei guten Instrumenten beträgt ± 0,1 Scalentheile. Bei geringer Empfindlichkeit des Auges für Farbenunterschiede benutzt man am Besten Natriumlicht zur Beleuchtung.

Es ist endlich einleuchtend, dass man auch bei Gegenwart von bekannten Gewichten circumpolarisirender Stoffe von bekannter spec. Drehung die spec. Drehung eines anderen gleichzeitig darin vorhandenen Stoffes ermitteln kann, wenn sein Gewicht in einem bestimmten Volumen Flüssigkeit bekannt ist.

Das Polaristrobometer von Wild.

24. Wild's grosses Polaristrobometer*) zeichnet sich durch seine sehr allgemeine Anwendbarkeit sowie durch den Vorzug aus, dass es eine noch etwas einfachere und deshalb schärfere Bestimmung der Rotation gestattet, als das Soleil'sche Saccharimeter. Das kleine Instrument, welches Wild angegeben hat, bietet schon erhebliche Vortheile gegen den einfachen Mitscherlich'schen Apparat; seine Schilderung kann hier übergangen werden, da es in allen wesentlichen Einrichtungen mit dem grossen Instrumente von Wild übereinstimmt und hauptsächlich nur darin abweicht, dass höchstens 50 Mm. lange Beobachtungsröhren in das kleinere Instrument eingelegt werden können. Fig. 7 (siehe folgende Seite) stellt die Ansicht des grossen Wild'schen Instruments dar, vor demselben der Gasbrenner mit Schornstein von Eisenblech, auf einem seitlichen Träger Sodaperlen an Platindrähten zum Einbringen in die Brennerflamme. Durch einen seitlichen circulären Ausschnitt des Schornsteins sendet die Flamme des Brenners das Licht zum Instrumente, in dessen Axe es von *d* nach *a* hindurchgeht und bei *a* das Auge des Beobachters erreicht. Durch ein Diaphragma bei *d* gelangt das Licht zunächst zu einem Nicol, welcher im Centrum der Scheibe *k* mit dieser zusammen um ihre Axe durch ein Zahngetriebe mittelst des Knopfes *c* drehbar ist. An der Peripherie der Scheibe *k* befindet sich eine Kreistheilung in $^1/_5$ Grade getheilt. Das drehbare Nicol'sche Prisma wird gehalten durch den Träger *h*, an welchem andererseits ein kleines Fernrohr, ein Nicol und das Polariskop *agl*, endlich vor der Kreisscheibe *k* der Indicator *i* befestigt sind. Zwischen Polariskop und drehbarem Nicol ist der Raum für die einzulegenden mit den zu untersuchenden Flüssigkeiten gefüllten Beobachtungsröhren *r*. Der dem Auge des Beobachters zugewandte Theil des Instruments besteht bei *a* aus einem Nicol und Savart'schen Polariskop (zusammengesetzt aus zwei Kalkspathplatten, die unter 45° gegen die optische Axe des Krystalls geschnitten und mit ihren Hauptschnitten unter 90° gekreuzt auf ein-

*) Wild's Polaristrobometer wird vortrefflich angefertigt von den Mechanikern Hermann und Pfister in Bern.

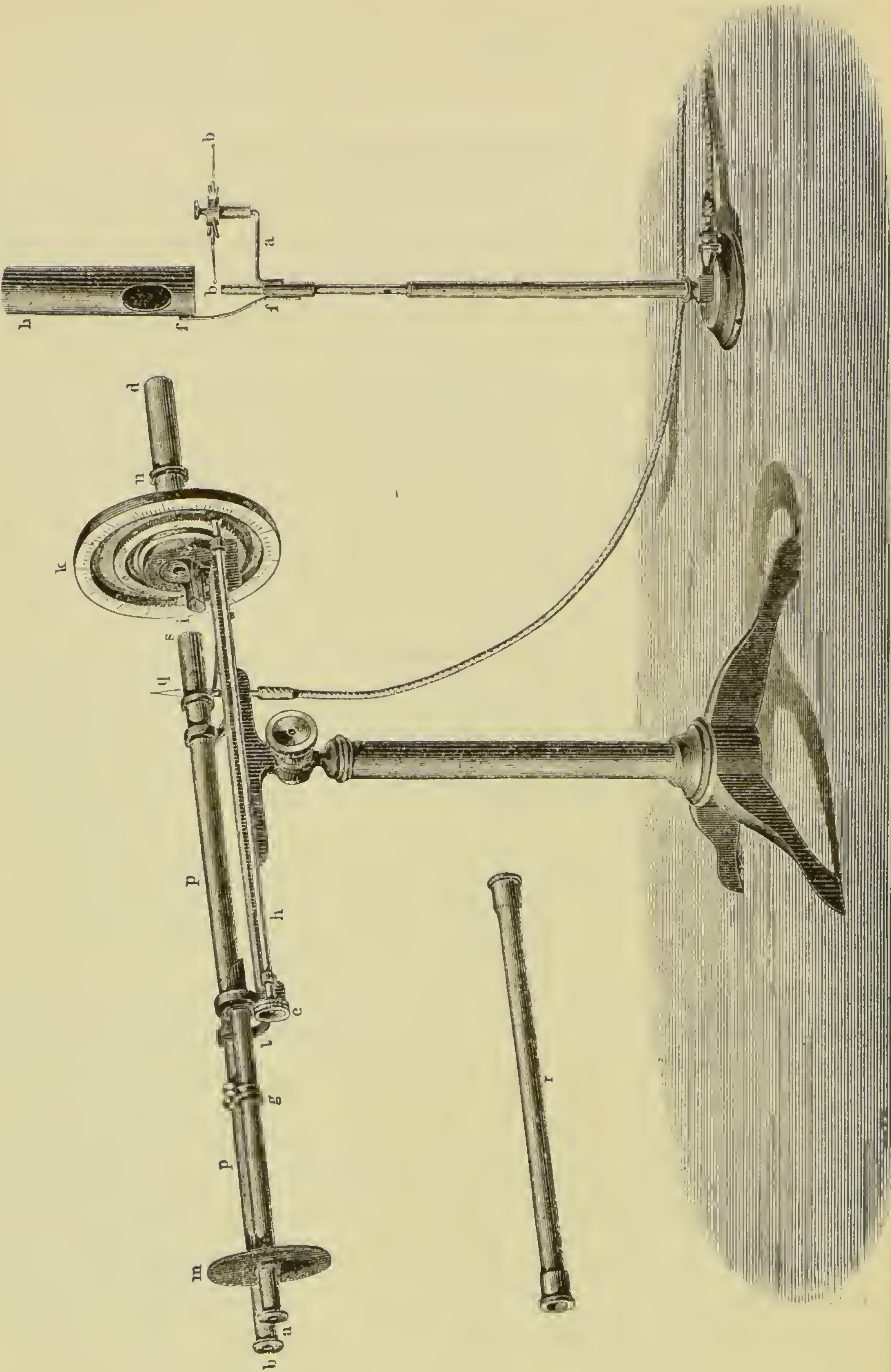
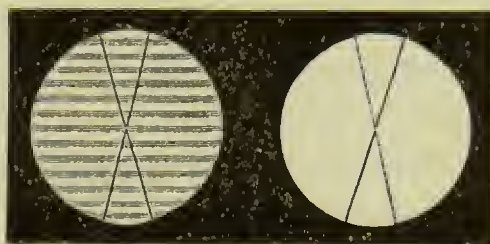


Fig. 7.

ander gelegt sind). Dies letztere bewirkt, dass bei der Beobachtung in allen Stellungen der Nicol gegen einander das durch das Instrument gehende Licht horizontale Interferenzstreifen zeigt, wenn nicht die Schwingungsebene des zweiten Nicol parallel oder senkrecht zu derjenigen des in ihn eintretenden Lichtes ist. Am Kopf des Apparates befindet sich ferner, wie bereits angegeben, ein kleines Fernrohr und in dem Rohre an geeigneter Stelle ein Fadenkreuz, dessen Bild bei der Beobachtung genau einzustellen ist. Durch das Fernrohr *bpps* ferner beobachtet man die Scala der Scheibe *k* und den Indicator *i*, während von dem Schlitzbrenner *q* die Beleuchtung dieser Scala vermittelst eines schräg gestellten, in der Mitte durchbohrten Metallspiegels, der sich am Ende des Fernrohrs befindet, bewirkt wird. Der Träger *h* ist auf dem Stativ *f* horizontal und vertical drehbar, damit man ihn mit *d* genau auf die Natriumflamme einstellen kann.

Um Beobachtungen mit dem Instrumente auszuführen, richtet man dasselbe zunächst mit dem Ende *d* gegen die Gas- oder Alkoholflamme, in welche eine Sodaperle eingeführt ist, stellt das Ocular in *a* so ein, dass man das Fadenkreuz scharf sieht, beleuchtet durch die Flamme *q* die Scala und dreht mittelst des Knopfes *c* die Scheibe *k* mit dem analysirenden Nicol. Es zeigen sich schwarze Interferenzstreifen horizontal das Gesichtsfeld durchsetzend, welche bei der Drehung des einen Nicol bald dunkler, bald wieder heller werden, aber nur dann vollständig verschwinden aus der Mitte des Gesichtsfeldes, wenn die beiden Nicol entweder gleiche Stellung haben oder genau unter 90° gegen einander gekreuzt sind. Fig. 8 erläutert die Erscheinung der Interferenzstreifen und ihr Verschwinden im Gesichtsfelde mit dem Fadenkreuz. Dreht man also den Nicol um sich selbst einmal ganz herum, so verschwinden die Interferenzstreifen 4 Mal entsprechend den 4 Quadranten des Kreises. Die Stellung der Nicol, bei welcher die Interferenzstreifen verschwinden, lässt sich an der Kreistheilung genau ablesen.

Fig. 8.



Legt man nun, nachdem an der Scala die Stellung festgestellt ist, bei welcher die Interferenzstreifen verschwunden sind, eine mit drehender Flüssigkeit gefüllte Röhre zwischen den drehbaren Nicol und das Polariskop ein, so wird das Verschwinden der Interferenzstreifen nicht mehr bei der Stellung des Nicol stattfinden, bei welcher dies vor Einlegen der Röhre der Fall war. Man sucht jetzt durch Drehung des Knopfes *c* die Stellung des Nicols auf, bei welcher jetzt die Interferenzstreifen verschwunden sind, liest durch das Fernrohr an der Scala ab, wie weit man nach der einen oder anderen Seite hat den Nicol drehen müssen, um das Verschwinden der Streifen herbeizuführen, und findet in der Differenz der beiden Ablesungen den Winkel der Rotation, welche die Flüssigkeit ausübt. Zweifelt man, ob die Flüssigkeit rechts oder links drehend sei, so untersucht man die Flüssigkeit sowohl in einem 200 Mm. als in einem 100 Mm. langen Rohre; die bei der letzten Beobachtung erhaltene Drehung muss die Hälfte der ersteren betragen. Bei der Auswahl der Beobachtungsröhre ist darauf zu achten, dass man durch die mit Flüssigkeit gefüllte Röhre, wenn man sie gegen das Licht hält, gut hindurch sehen kann, dass also nicht zuviel Licht von der Flüssigkeit absorbirt wird. Ist dieselbe vollkommen klar und nur wenig gefärbt, so benutzt man die längste Röhre; bei stark gefärbten oder etwas opalescirenden Flüssigkeiten ist es wohl stets zweckmässig, sich mit einer kürzeren Röhre zu begnügen.

Ist die Drehung nicht sehr bedeutend, so kann man auch mit dem von einer weissen Wand oder den Wolken reflectirten Sonnenlicht oder mit Lampenlicht Bestimmungen ausführen, bei etwas stärkeren Drehungen wird die Lage der Schwingungsebenen der einzelnen Spectraltheile zu verschieden, so dass bei keiner Stellung des Nicol *a* die Interferenzstreifen verschwinden, und es ist daher im Allgemeinen zweckmässig, gleich von vorn herein sich des Natriumlichtes zu bedienen. Kennt man die Drehungsconstante des in der Flüssigkeit enthaltenen activen Körpers für Natriumlicht, so berechnet man leicht aus der durch die Beobachtung ermittelten Drehung den Gehalt davon in Grammen für 1 Liter Lösung; ist der Gehalt im Liter bekannt, so ergiebt sich aus der Beobachtung die spec. Drehung — beides nach denselben Formeln, welche für diese Berechnungen nach den Beobachtungen mit dem Mitscherlich'schen Apparate in § 21 angegeben sind.

Halbschattenpolarimeter nach Lippich*).

25. Die Halbschattenapparate bestehen 1) wie die übrigen zur Messung der Circularpolarisation verwendeten Apparate aus einem feststehenden und einem um die Schaxe drehbaren Nicolschen Prisma, 2) aus einer Vorrichtung, durch welche die Lage der Polarisationsebene in der einen Hälfte des Gesichtsfeldes um einen Winkel von wenigen Graden gegen die der anderen Hälfte abweicht, 3) einer Collimatorlinse zur Parallelstellung der Lichtstrahlen, welche das Instrument beleuchten, 4) einem Fernrohre zur scharfen Einstellung der Grenzlinie beider Gesichtshälften für das Auge und 5) einer Kreistheilung mit Nonius zur Messung der Drehungen des Analysators.

Bei der Ausführung der Messung soll das drehbare Nicolsche Prisma so eingestellt werden, dass die Beschattung der einen Hälfte des Gesichtsfeldes gleich der der anderen wird, beide also nicht vollständig dunkel und gegen die Lage der Polarisationsebene des Polarisators die des Analysators nicht senkrecht gestellt ist, aber der Winkel dieser Stellung gegen diese Lage beider Seiten gleich und zugleich von 90° nicht weit entfernt ist.

Von allen Halbschattenpolarimetern, welche seit dem von Jelett**) nach diesem Princip zuerst construirten Instrumente bekannt geworden sind, zeichnen sich die von Lippich construirten Instrumente durch die grosse Schärfe aus aus, mit der sie Bestimmungen auszuführen gestatten; es möge deshalb hier die Beschreibung eines solchen Instrumentes, wie es von den rühmlich bekannten Optikern F. Schmidt und Haensch in Berlin für das physiologisch-chemische Institut der Strassburger Universität angefertigt ist, hier Platz finden. Das Instrument wird erläutert durch Fig. 9.

Auf der horizontalen Fussplatte sind fest aufgeschraubt die starken parallelen Träger von Messing A und B, durch 7 horizontale Stäbe verbunden, von denen die drei oberen zur Fixirung der aufgelegten Röhre i, in welcher die zu untersuchende Flüssigkeit sich befindet, dienen, während die 4 unteren nur zur festen Verbindung der beiden

---

*) Naturwissenschaftl. Jahrbuch Lotos, N. F. Bd. 2. Prag, Trempsky 1880. Wien. Acad. Sitzungsber. Bd. 85. II. Februar 1882.

**) Rapports of the British Association 1860. 2. p. 13., vergl. hinsichtlich der übrigen Halbschattenapparate, von denen besonders der von Laurent sehr verbreitet ist, Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen etc. Braunschweig, Wiegand und Sohn. 1879. S. 112.

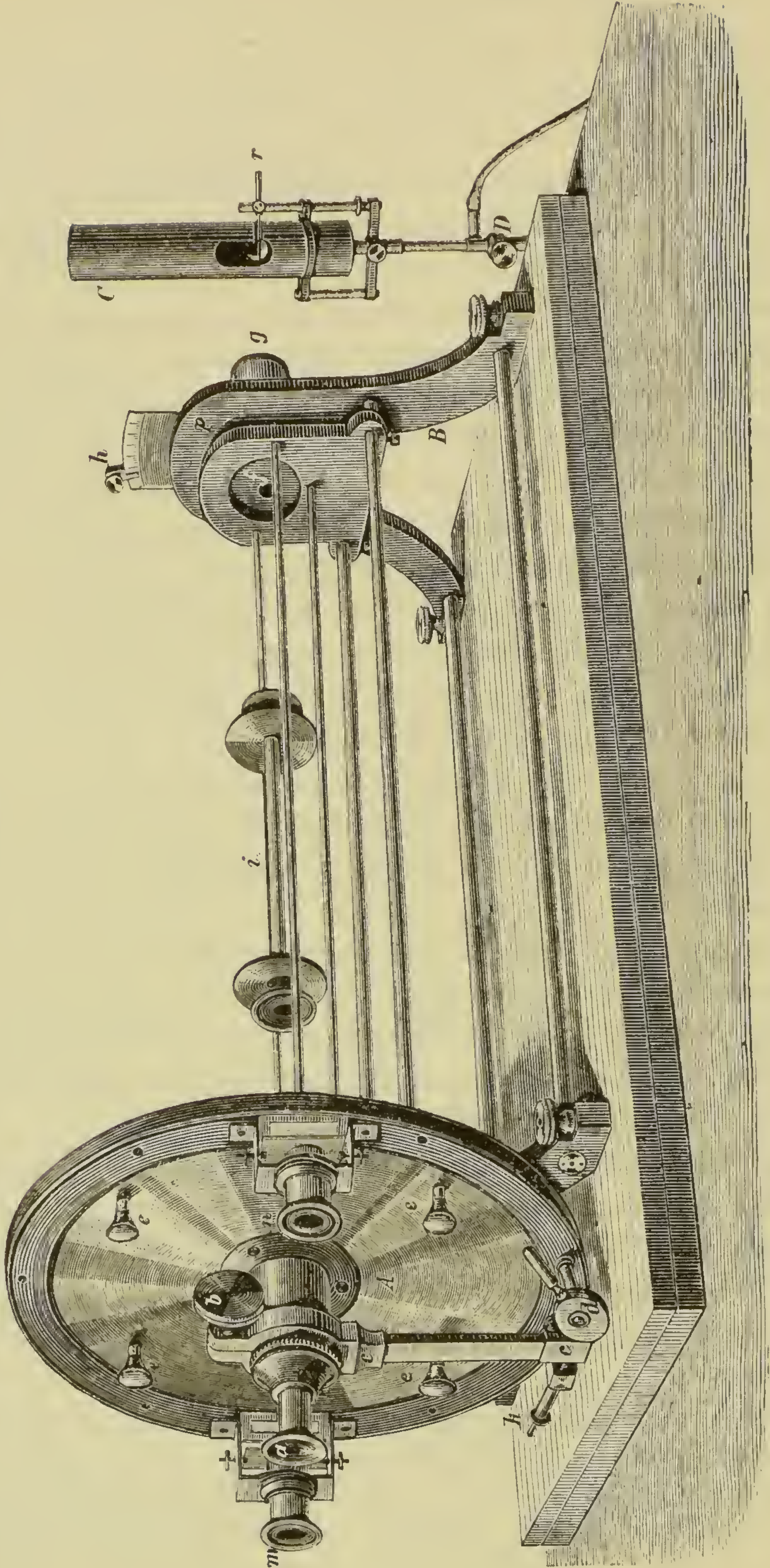


Fig. 9.

Träger dienen. Zwischen *f* und *g* in der Sehaxe des Instrumentes befindet sich 1) zunächst bei *f* ein Nicolsches Prisma als Polarisator, das ganze Gesichtsfeld einnehmend, 2) bei *g* gleichfalls über das ganze Gesichtsfeld eine Collimatorlinse, 3) zwischen beiden ein durch verticale Flächen begrenztes, nur das halbe Gesichtsfeld einnehmendes Nicolsches Prisma, dessen Drehung um die Sehaxe des Instrumentes durch den Index *h* ausgeführt werden kann, während dieser Index *h* an der Scala angiebt, unter welchem Winkel die Polarisationsebene des drehbaren Nicolschen Prisma gegen diejenige des feststehenden Polarisator steht. Dieser Winkel soll stets nur ein sehr kleiner sein.

Im Centrum von *A* ist das analysirende Nicolsche Prisma fest in die drehbare Scheibe eingesetzt, der Rand dieser in seiner Umfassung mit der Hand an den Knöpfen *e e e e* drehbaren Scheibe in Grade, halbe und viertel Grade (bei 30 Cm. Durchmesser) getheilt. Auf der Führung der Scheibe befindet sich am Rande beiderseits ein Nonius, welcher die Viertelgrade in 25 Theile theilt, so dass mit den Loupen *m n* hundertel Grade abgelesen werden können.

Mit der Hand wird die Einstellung des Analysators nur so weit ausgeführt, dass bei der Beobachtung durch das Fernrohr *a* die beiden Gesichtshälften einigermassen gleich beschattet erscheinen. Man schraubt dann die Schraube *b* fest, durch welche der Zeiger *c c*, der bis dahin auf dem Rohr des Analysators leicht gleiten konnte, auf demselben festgestellt wird, und beobachtet nun durch *a* das Gesichtsfeld, während man den Excenter *d* hin und her bewegt, bis beide Hälften des Gesichtsfeldes gleiche Beschattung zeigen. Das Stäbchen *k*, mittelst einer Feder in seiner Führung gegen den Zeiger *c c* gedrückt, lässt denselben der Bewegung des Excenter *d* genau folgen.

Die Genauigkeit der Einstellung ist in hohem Grade abhängig von der Intensität der Belichtung. Wenn kein Gebläse zur Erzeugung hoher Flammentemperatur zu Gebote steht, hat es sich zweckmässig erwiesen, durch die in *C D* dargestellte Bunsen'sche Lampe mit weitem, innen und aussen geschwärzten Cylinder die Belichtung auszuführen. In den unteren Theil des seitlichen Ausschnittes dieses Cylinders wird durch horizontale Drehung ein Platinlöffelchen *r* mit einem kurzen Büschel von Platindrähten versehen und mit Stücken Steinsalz gefüllt in die Flamme, welche nur schwach bläulich leuchten darf, eingeführt und durch das geschmolzene, zwischen die Platindrähte aufgesaugte Salz bei seiner Verdunstung eine intensive Natriumflamme erzeugt. Man stellt diese Beleuchtungsvorrichtung in der Weise

vor den Halbschattenapparat, dass nur das Licht aus der oberen Abtheilung des Ausschnittes, nicht von den Platindrähten, zu ihm gelangt.

Um Rotationsbestimmungen mit dem Instrumente auszuführen, wird nach Richtigstellung der Lampe gegen dasselbe die Röhre *i* herausgenommen, die Schraube *b* gelöst und nun durch Drehung der Scheibe *A* an den Knöpfen *e e e e* dem Analysator eine Stellung gegeben, bei welcher beide Hälften des Gesichtsfeldes, die bei der Beobachtung durch das Fernrohr *a* sich dem Auge darbieten, gleiche Beschattung zeigen, dann wird *b* festgeschraubt und nun bei Beobachtung durch *a* möglichst genau gleiche Beschattung des Gesichtsfeldes durch Bewegung des Zeigers *c c* mittelst Drehung des Excenter *d* an seiner Handhabe herbeigeführt, dann am Rande der Scheibe *A* durch die Loupen *m* und *n* an Gradeintheilung und Nonius die Stellung abgelesen. Diese Bestimmung wird oft wiederholt, auch das eine Mal von der einen, das andere Mal von der anderen Seite her die Gleichstellung herbeigeführt, schliesslich aus allen Beobachtungen das Mittel berechnet.

Durch Verschiebung von *h* an seiner Scala und hierdurch bewirkter Drehung des das halbe Gesichtsfeld deckenden Nicolschen Prisma kann man dann erkennen, bei welchem Winkel der Polarisationsebene desselben zu derjenigen des Polarisators für die herrschende Belichtung die schärfste Bestimmung erzielt werden kann.

Nachdem auf dem beschriebenen Wege die Bestimmung des 0-Punktes mit möglichster Schärfe ausgeführt ist, wird die Röhre *i* mit der zu prüfenden Flüssigkeit eingelegt und nun die Bestimmung in der angegebenen Weise wiederholt. Für möglichst genaue Bestimmung ist 1) die Länge der Flüssigkeitsröhre möglichst gross zu wählen und die Temperatur durch Benutzung einer Röhre entsprechend Fig. 4 mit umspülendem Wasser von bestimmter Temperatur zu reguliren. Röhren von 20 Cm. sind die gebräuchlichsten, solche von 50 Cm. oft zweckmässig. Es ist ohne Schwierigkeit sowohl durch Benutzung der Flammen von anderen Metallverbindungen, Lithium, Thallium u. s. w. und eines kräftigen Sonnenspectrums im dunklen Raume entworfen mittelst Heliostat, Spalt, Collimator und Prisma auch für verschiedene andere Lichtarten, als die der Natriumflamme, die Drehungsbestimmungen für Flüssigkeiten mit diesem Halbschattenpolarimeter auszuführen.

Der Fehler kann nach meinen Beobachtungen nur kleiner als $^1/_{10}$ Grad sein, selbst bei nicht intensiver Belichtung, eine Genauig-

keit, welche mit den vorzüglich gearbeiteten Wild'schen Polaristrobometern bei Weitem nicht erreicht wird.

Die Berechnungen der Drehungen, der spec. Drehungen und des Gehaltes an optisch activer Substanz im bestimmten Volumen einer Flüssigkeit werden in gleicher Weise ausgeführt, wie es oben in § 21 angegeben ist.

Untersuchung der Fluorescenz.

26. Fluorescenz findet sich bezüglich der in höheren Thieren vorkommenden Substanzen in auffallenderem Grade nur selten. Stark fluorescirt die Lösung der Gallensäure in concentrirter Schwefelsäure; Albuminlösungen, Harn u. s. w. zeigen schwache Fluorescenz.

Um eine Flüssigkeit auf Fluorescenz zu prüfen, lässt man Sonnenlicht, durch eine Linse concentrirt, in die Flüssigkeit in der Weise einfallen, dass die Spitze des gebildeten Lichtkegels sich in der Flüssigkeit befindet. Erkennt man den Lichtkegel in der einen oder anderen Farbe leuchtend und bleibt dieses Leuchten unverändert, wenn man den Kegel durch ein Nicolsches Prisma betrachtet und dies Prisma vor dem Auge um seine Längsaxe herumdreht, so ist die Flüssigkeit fluorescirend. Wird dagegen der leuchtende Kegel bei der Drehung des Nicol dunkler und bei weiterer Drehung wieder heller, so rührt die Zerstreuung des Lichtes nicht von Fluorescenz her, sondern von feinen in der Flüssigkeit suspendirten Theilchen.

Ueber eine in den Flüssigkeiten von Säugethieren in geringerer Menge sehr verbreitete chininähnlich stark fluorescirende Substanz vergl. Bence-Jones Royal Instit. of Great Brit. March 23. 1866.

II. ABTHEILUNG.

Die Reagentien.

27. Reinheit der Reagentien ist die erste Bedingung der chemischen Analyse. Im Allgemeinen hat man sich zu überzeugen, ob man nicht mit den Reagentien Stoffe in die zu untersuchenden Flüssigkeiten bringen würde, die man darin gerade aufsuchen will, oder

solche, die sich diesen ähnlich verhalten und schwer davon zu trennen sind. Allerdings erhält man jetzt den grössten Theil der Reagentien aus guten chemischen Fabriken oder Apotheken hinreichend rein, bei anderen ist dies nicht der Fall und einige, insbesondere gasförmige oder leicht zersetzliche, hat man selbst beim Gebrauch darzustellen und zu reinigen. Hierüber die folgenden Bemerkungen.

Einfache Lösungsmittel.

Destillirtes Wasser soll farb-, geschmack- und geruchlos sein, beim Verdunsten keinen Rückstand hinterlassen und weder durch Schwefelammonium dunkel gefärbt werden, noch durch Chlorbarium oder durch oxalsaures Ammoniak oder salpetersaures Silberoxyd oder Quecksilberchlorid einen Niederschlag oder Trübung geben. Sehr häufig enthält destillirtes Wasser Spuren von Ammoniak, die man mit dem Nessler'schen Reagens nachweisen kann; um es davon zu befreien, destillirt man es nach Zusatz einiger Tropfen Schwefelsäure nochmals; meist sind jedoch diese Spuren von Ammoniak unschädlich.

Alkohol. Der gute käufliche Weingeist besitzt ein spec. Gewicht von 0,83 und enthält gegen 90 pCt. Alkohol; er ist, wenn er sich farblos erweist, weder sauer noch alkalisch reagirt, eine Probe davon ohne Rückstand zu hinterlassen in einer Glasschale auf dem Sandbade verdunstet und die letzten hierbei verdunstenden Portionen nicht sehr ausgeprägten Fuselölgeruch besitzen, zu fast allen Extractionen u. s. w. anwendbar.

Sogenannten absoluten Alkohol erhält man von 0,81 oder noch niedrigerem spec. Gewicht käuflich; will man diesen noch besser von Wasser befreien, so lässt man ihn unter häufigem Umschütteln längere Zeit mit vorher scharf getrocknetem kohlensauren Kali in einer verschlossenen Flasche stehen, filtrirt dann in eine tubulirte Retorte, giesst 100—200 Grm. Quecksilber dazu, um das Stossen beim Sieden zu vermeiden, und destillirt bei guter Kühlung mit Liebig'schem Kühlrohre ab. Man erhält so 99procentigen Alkohol.

Im absoluten Alkohol sind alle phosphorsauren, schwefelsauren Salze (ausser schwefelsaurem Lithion) mit anorganischen Basen unlöslich; auch kohlensaure fixe Alkalien lösen sich nicht darin. Chlorkalium und Chlornatrium lösen sich sehr schwer, Chlorcalcium, Chlormagnesium und Chlorammonium leicht, Chlorbarium gar nicht. Ebenso sind salpetersaurer Baryt und Ferrocyankalium darin unlöslich. Essig-

saure, milchsaure Salze lösen sich meist leicht in Alkohol, bernsteinsaure und oxalsaure dagegen meist gar nicht.

Aether ist wasserhaltig ziemlich rein im Handel. Er soll ohne Reaction auf blaues oder rothes Lackmus sein, auf einem Uhrglase bei gewöhnlicher Temperatur ohne Rückstand verdunsten (der sehr wasserhaltige Aether lässt zunächst unter Trübung wohl auch dabei Wasser zurück, welches dann auch bald verdunstet). Enthält der Aether viel schweres Weinöl, so lässt er beim langsamen Verdunsten einen harzigen Rückstand von eigenthümlichem Geruche zurück; solcher Aether ist durch Destillation im Wasserbade zu reinigen. Man destillirt Aether aus Kolben mit langem Liebig'schen Kühlrohre und Kühlung durch Eiswasser.

Der Aether mischt sich nicht in allen Verhältnissen mit Wasser, sondern erfordert von diesem 9 Gewichtstheile zur Lösung, er selbst löst Wasser auf. Wasserhaltiger Aether kann durch Schütteln mit Stücken von getrocknetem Chlorcalcium, Stehenlassen, Abfiltriren und Destilliren in wohlgetrockneten Apparaten leicht völlig wasserfrei erhalten werden. Er löst Quecksilberchlorid, auch etwas Chlorammonium und essigsaures Ammoniak und wird besonders zur Lösung und Extraction der Fette, der fetten Säuren und des Cholesterins angewendet.

Chloroform soll völlig klar, von angenehmen, nicht stechenden Geruche und ohne saure Reaction sein, auch nach längerem Stehen in verschlossener Flasche, und darf mit einer wässerigen Lösung von salpetersaurem Silber geschüttelt keinen Niederschlag von Chlorsilber geben. Das Verhalten gegen Bilirubin lässt gutes Chloroform von schlechtem unterscheiden.

Säuren.

Schwefelsäure.

28. Die käufliche englische Schwefelsäure benutzt man, wenn sie frei von Geruch nach schwefliger Säure ist, ohne alle Reinigung zur Füllung der Trockenapparate (vergl. § 7), sowie auch zu manchen chemischen Proceduren, bei denen eine reine Säure nicht erforderlich ist. Die chemisch reine Schwefelsäure soll farblos und geruchlos sein; eine Probe derselben mit etwas Salzsäure im Reagirglase übergossen, darf an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten keine Trübung (Bleigehalt) zeigen; ebensowenig darf sie mit Eisen-

vitriollösung übergossen eine bräunliche Schicht an der Oberfläche der Säure bilden (Salpetersäure oder Untersalpetersäure) und wenn man die Säure sehr verdünnt mit einem Strome Schwefelwasserstoffgas behandelt, soll kein anderer Niederschlag als weisse Trübung entstehen; auch soll keine Trübung entstehen, wenn man die Säure mit 4 bis 5 Theilen Weingeist verdünnt. Man benutzt gewöhnlich für Reactionen eine mit 8 Volumina Wasser verdünnte Säure und nimmt die Mischung in der Weise vor, dass man die Säure in dünnem Strahle unter Umrühren in das Wasser eingiesst.

Chlorwasserstoff.

Reine Salzsäure soll farblos sein, nach Einleiten von Schwefelwasserstoff keinen Niederschlag geben (oft ist Arsen darin enthalten), beim Abdampfen sich nicht gelb färben (Eisenchlorid) und keinen festen Rückstand beim völligen Verdunsten zurücklassen. Mit einer farblosen Lösung von Jodkalium und etwas Stärkekleister darf sie keine blaue Färbung geben (oxydirende Substanzen, als: Chlor, Eisenchlorid); es darf aber auch beim Zusammenbringen mit etwas Jodstärke durch die Salzsäure keine Entfärbung eintreten (reducirende Stoffe). Mit Chlorbarium giebt concentrirte Salzsäure einen krystallinischen Niederschlag, der in Wasser vollkommen löslich ist; bleibt nach dem Wasserzusatze eine Trübung, so ist eine Verunreinigung mit Schwefelsäure damit erwiesen.

Zu vielen nur nicht direct analytischen Zwecken ist die käufliche rohe Salzsäure, die alle jene Verunreinigungen enthalten kann, ohne Weiteres brauchbar.

Salpetersäure.

Die reine Salpetersäure ist völlig farblos, verflüchtigt sich beim Verdampfen ohne Rückstand und giebt mit Wasser verdünnt weder mit salpetersaurem Silberoxyd noch mit salpetersaurem Baryt einen in Wasser unlöslichen Niederschlag.

Die concentrirte Säure entwickelt im Sonnenlichte rothe Dämpfe von Untersalpetersäure, ist somit davor zu bewahren.

Königswasser

mischt man, sobald man es braucht, aus 4 Theilen reiner concentrirter Salzsäure und 1 Theil reiner concentrirter Salpetersäure zusammen.

Essigsäure.

Die ganz concentrirte Essigsäure (Eisessig) ist um so besser, bei je höherer Temperatur sie krystallinisch erstarrt. Der käufliche sog.

Eisessig enthält Wasser, ist aber zu den hier in Betracht kommenden Operationen brauchbar, wenn er auch schon bei 0° flüssig ist.

Reine Essigsäure soll beim Abdampfen ohne Rückstand sich verflüchtigen, farblos sein und nach Verdünnen mit Wasser weder mit salpetersaurem Silber noch mit Chlorbarium noch beim Einleiten von Schwefelwasserstoffgas einen Niederschlag geben.

Weinsäure

wird hauptsächlich zum Nachweis des Kalium und Trennung des Eisenoxydes von der Phosphorsäure benutzt. Man bewahrt sie fest auf, da die Lösung bald von Schimmelbildung trübe wird.

Citronensäure

käuflich; dieselbe ist trocken aufzubewahren und soll frei von Phosphorsäure sein.

Alkalien.

29. Kali- und Natronlauge sind käuflich zu beziehen oder durch Auflösen von festem Kali- und Natronhydrat darzustellen. Fast in allen Fällen ist es gleichgültig, ob man zu den Reactionen Kali- oder Natronlauge anwendet, zur Absorption der Kohlensäure dagegen benutzt man stets sehr concentrirte Kalilauge, am besten von 1,27 spec. Gew. Das käufliche Aetzkali oder Aetznatron enthält immer etwas Thonerde, Kieselsäure, Kohlensäure, auch meist Chlor, Schwefelsäure und Phosphorsäure.

Man prüft die Laugen durch Uebersättigen mit Salpetersäure und Zusatz von Chlorbariumlösung zu dem einen Theile und einer Lösung von molybdänsaurem Ammoniak in concentrirter Salpetersäure zum anderen Theile. Entsteht sogleich oder nach kurzer Zeit in der ersteren Probe ein Niederschlag, so ist Schwefelsäure vorhanden. Ein nach einiger Zeit, besonders nach Erwärmen in der zweiten Probe, gebildeter Niederschlag zeigt die Anwesenheit von Phosphorsäure an. Löst man das käufliche, geschmolzene Kali- oder Natronhydrat in absolutem Alkohol, lässt gut absetzen, giesst dann die klare Flüssigkeit in eine Silberschale und verdunstet darin unter steigender Erhitzung und öfterem Zusatz von Wasser, erhitzt endlich bis zum Schmelzen, so erhält man ein bis auf etwas Thonerdebeimengung reines Präparat. Es ist jedoch diese Reinigung nur für einzelne Zwecke erforderlich.

Vollkommen reines Aetzkali und Aetznatron werden aus Kalium und Natrium gewonnen.

Die Aetzalkalien müssen in gut verschlossenen Gefässen aufbewahrt werden, da sie an der Luft begierig Kohlensäure anziehen. Bestreicht man die Glaspfropfen dieser Gefässe mit etwas Paraffin oder Vaseline, so kitten sie sich nicht fest, was ohne dies bald geschieht, wenn die Flaschen einige Zeit ungeöffnet stehen.

Die innere Oberfläche der Glas- und Porzellangefässe wird durch die Laugen besonders in der Wärme erheblich angegriffen, die Laugen selbst werden dadurch in einiger Zeit trübe. Die meisten organischen Stoffe, Papier, Kork, Holz u. s. w., werden durch concentrirte Aetzlaugen schnell zerstört. Man dampft die freies Kali oder Natron enthaltenden Flüssigkeiten in eisernen oder besser silbernen Gefässen ein.

Aetzammoniak-Flüssigkeit.

Käuflich leicht rein zu erhalten. Es soll dieselbe farblos sein, beim Verdampfen keinen Rückstand hinterlassen, durch frisch filtrirtes Kalkwasser nicht getrübt werden und beim Einleiten von Schwefelwasserstoffgas weder Niederschlag geben noch sich dunkler färben.

Aetzbarythydrat.

In schönen Krystallen käuflich ziemlich rein zu erhalten.

Aetzkalk.

Der Aetzkalk wird als gebrannter Kalk, Kalkmilch oder Kalkwasser benutzt. Zur Darstellung der Kalkmilch übergiesst man in einer Schale Stücke von frisch gebranntem Kalke allmälig mit etwas Wasser und fährt langsam mit Wasserzusatz fort, bis unter lebhafter Erhitzung und Aufblähen der Kalk zum unfühlbaren Pulver zerfallen ist; dies Pulver versetzt man in einer Flasche mit so viel Wasser, dass nach dem Umschütteln ein dünner Brei entsteht, und bewahrt diese Milch gut verschlossen auf. Filtrirt man von dieser Kalkmilch die Flüssigkeit ab, so erhält man das seltener benutzte Kalkwasser. Soll das Kalkwasser frei von Alkali sein, so giesst man das erste und zweite Filtrat weg, wäscht den Kalk zum dritten Mal mit Wasser und filtrirt.

Natronkalk darf mit Säuren übergossen nicht lebhaft brausen und beim Erhitzen nicht leicht schmelzen. Er wird als grobes Pulver verwendet und ist in gut verschlossenen Flaschen aufzubewahren, da er mit grosser Begierde Wasser und Kohlensäure aufnimmt.

Kohlensaures Natron.

30. Reines kohlensaures Natron erhält man durch Auswaschen von käuflichem doppelt kohlensauren Natron mit destillirtem Wasser bei gewöhnlicher Temperatur (so lange bis das Filtrat nach Uebersättigen mit Salpetersäure weder durch Chlorbarium noch durch salpetersaures Silberoxyd getrübt wird), Trocknen und Glühen des rückständigen Salzes in einer Platin-, Silber- oder blanken Eisenschale. Mit Salpetersäure übersättigt darf seine Lösung mit molybdänsaurem Ammoniak keine gelbe Farbe beim Erwärmen geben. Zur Prüfung auf Kieselsäure übersättigt man die Probe mit Salzsäure, dampft zur völligen Trockne ab und löst den Rückstand in Wasser; der ganze Rückstand löst sich klar auf, wenn er frei von Kieselsäure ist. Das reinste Natriumcarbonat erhält man aus Natrium.

Kohlensaures Ammoniak

soll beim Erhitzen sich leicht und ohne Rückstand verflüchtigen und in wässeriger Lösung weder mit Schwefelwasserstoff, noch nach Uebersättigen durch Salpetersäure mit salpetersaurem Silberoxyd oder Chlorbarium eine Fällung geben.

Kohlensaurer Kalk.

Am Besten weisser Marmor oder Kalkspath. In ihrer Lösung in Salpetersäure soll durch salpetersaures Silber kein Niederschlag entstehen.

Kohlensaurer Baryt hinreichend rein im Handel; durch Auswaschen mit Wasser befreit man ihn von etwaigen Spuren kohlensaurer Alkalien.

Chlornatrium.

31. Farblose, durchsichtige Stücke von Steinsalz werden grob zerstossen, einige Male mit destillirtem Wasser gewaschen, dann in einer Flasche mit einer zur Lösung nicht völlig zureichenden Quantität destillirten Wassers unter öfterem Umschütteln mindestens 24 Stunden stehen gelassen, dann filtrirt. Die Lösung darf weder mit Platinchlorid noch mit oxalsaurem Ammoniak oder Chlorbarium oder phosphorsaurem Natron und Ammoniak einen Niederschlag geben.

Chlorammonium.

Der Salmiak soll auf Platinblech erhitzt sich ohne Rückstand verflüchtigen und seine wässrige Lösung durch Schwefelammonium nicht gefällt werden.

Chlorcalcium

wird durch Lösen von reinem Kalkspath oder Marmor in reiner Salz-

säure, Abdampfen zur Trockne, Glühen und Wiederlösen in Wasser gewonnen. Es soll mit Schwefelammonium weder Niederschlag noch Färbung geben.

Chlorbarium käuflich.

Eisenchlorid

käuflich, reagirt stets sauer, darf aber keine freie Säure enthalten, eine Probe der Lösung soll also mit einem Tropfen Ammoniakflüssigkeit versetzt einen beim Umschütteln nicht verschwindenden Niederschlag von Eisenoxydhydrat geben. Durch Zusatz von Ferricyankaliumlösung darf kein blauer Niederschlag erzeugt werden.

Quecksilberchlorid käuflich, reagirt schwach sauer.

Platinchlorid.

Platinabfälle werden in einem Kolben erst mit reiner Salpetersäure gekocht, dann die Säure abgegossen, mit Wasser das Platin gut gewaschen und nun mit concentrirter Salzsäure gekocht, auch diese abgegossen, das Platin mit Wasser gewaschen und nun in Königswasser kochend oder auf dem Wasserbade gelöst. Die erhaltene dunkelrothe Lösung wird in der Porzellanschale auf dem Wasserbade zum Syrup verdunstet, Salzsäure aufgegossen, wieder verdampft und dies Aufgiessen der Salzsäure und Verdunsten noch mehrmals wiederholt. Das gut abgedampfte Platinchlorid erstarrt beim Erkalten zur festen strahligen Krystallmasse. Es wird in etwas Wasser gelöst und in gut verschlossener Flasche aufbewahrt.

32. Schwefelsaures Natron hinreichend rein im Handel.

Schwefelsaure Magnesia käuflich.

Sie darf in Wasser gelöst und mit einem Ueberschuss von Chlorammoniumlösung versetzt durch Ammoniak, kohlensaures Ammoniak und überschüssiges oxalsaures Ammoniak keinen Niederschlag geben (Kalkgehalt).

Schwefelsaures Kupferoxyd und schwefelsaure Kalithonerde käuflich hinreichend rein.

Salpetersaures Natron.

Reine Salpetersäure wird mit reinem kohlensauren Natron neutralisirt, zur Trockne abgedampft und gepulvert. Gut verschlossen aufzubewahren. Die Lösung dieses Salzes darf weder mit salpetersaurem Silber noch mit Chlorbarium, noch mit kohlensaurem Natron Trübung oder Niederschlag geben. Das reine salpetersaure Natron wird zur Bestimmung des Schwefel- und Phosphorgehaltes organischer Substanzen benutzt.

Salpetersaures Kali

käuflich zur Lösung von Fibrin etc.

Salpetersaurer Baryt

käuflich, darf durch Silberlösung in der wässerigen Lösung nicht getrübt werden.

Salpetersaures Silberoxyd.

Der Silbersalpeter soll in Wasser klar gelöst werden, die Lösung neutral reagiren, und nach Ausfällung der Lösung durch etwas überschüssige verdünnte Salzsäure und Filtriren soll beim Verdunsten des Filtrats kein fester Rückstand bleiben.

Salpetersaures Quecksilberoxyd

käuflich als Lösung, oder man digerirt Quecksilber mit etwas Salpetersäure, giesst die Lösung ab und wäscht das Quecksilber mit etwas kalter Salpetersäure, dann löst man es in concentrirter Salpetersäure unter Erhitzen und öfterem Zusatz neuer Mengen von Salpetersäure so lange, bis sich keine rothen Dämpfe von Untersalpetersäure mehr zeigen und eine Probe der Lösung mit Chlornatriumlösung oder Salzsäure keine Trübung mehr zeigt. Man verdampft dann die Lösung zum dünnen Syrup.

Basisch salpetersaures Wismuthoxyd

ist käuflich hinreichend rein.

Phosphorsaures Natron.

33. Die Lösung des Salzes in kochendem Wasser darf mit Salzsäure versetzt nicht aufbrausen, soll mit salpetersaurem Silber einen Niederschlag geben, der in Salpetersäure leicht völlig löslich ist, und darf kalt mit Ammoniak versetzt keinen Niederschlag geben.

Neutrales chromsaures Kali

käuflich hinreichend rein.

Molybdänsaures Ammoniak.

Man löst das käufliche Salz in etwas Ammoniak, fügt (das 15fache Gewicht des Salzes) starke Salpetersäure hinzu und lässt einige Zeit stehen. Hat sich ein Niederschlag gebildet, so giesst man davon ab und bewahrt die Lösung zum Gebrauch auf. Sie soll bis 40 ° erwärmt keinen weissen Niederschlag geben; beim Kochen tritt derselbe ein, wenn man nicht noch mehr Salpetersäure hinzugefügt hatte.

Dieses ausserordentlich feine Reagens auf Phosphorsäure ist zur Auffindung von Phosphorsäure in thierischen Flüssigkeiten ohne vorhergehende Veraschung meist nicht zu gebrauchen, weil fast immer Reduction der Molybdänsäure (grüne Färbung) eintritt.

34. Essigsaures Natron käuflich.

Essigsaures Kupferoxyd.

Das käufliche Salz wird zum Gebrauch in warmem Wasser gelöst.

Essigsaures Bleioxyd (Bleizucker)

käuflich, in Wasser gelöst gut verschlossen aufzubewahren.

Oxalsaures Ammoniak

erhält man durch Auflösen von käuflicher Oxalsäure in wenig Wasser, Sättigen mit Ammoniak, Abdampfen auf ein kleines Volumen. Beim Erkalten scheidet sich das oxalsaure Ammoniak in Krystallen aus.

Ferrocyankalium

käuflich, in concentrirter wässeriger Lösung aufzubewahren. Bei seiner Anwendung zur Prüfung auf Eisenoxyd u. s. w. darf die zu prüfende Flüssigkeit nicht zu scharf sauer von einer anorganischen Säure sein.

Schwefelcyankalium, Schwefelcyanammonium und Nitroprussidnatrium sind käuflich und am Besten bis zum Gebrauche wohl verschlossen und in Krystallen aufzubewahren.

Nessler's Reagens auf Ammoniak.

Man löst 2 Grm. Jodkalium in 50 CC. Wasser und fügt Quecksilberjodid unter Erwärmen so lange hinzu, bis etwas ungelöst bleibt, lässt erkalten, verdünnt mit 20 CC. Wasser und versetzt 2 Theile dieser Lösung mit 3 Theilen concentrirter Kalilauge, ein etwa entstehender Niederschlag wird abfiltrirt und die Flüssigkeit gut verschlossen aufbewahrt.

Die geringsten Spuren Ammoniak geben mit dieser Flüssigkeit gelbe Färbung, durch Zusatz von mehr Ammoniak entsteht brauner Niederschlag von Hydrargyrammoniumjodid.

Jodquecksilberkaliumlösung.

Reines Quecksilberjodid wird in heisser Jodkaliumlösung bis zur Sättigung gelöst und erkalten lassen. Die abgegossene Flüssigkeit dient zur Fällung von Ammoniak, Ammonium- und Ammoniakbasen, Eiweissstoffen, Leim u. s. w.

Phosphorwolframsäure,

in Lösung auch krystallisirt käuflich, oder man löst phosphorwolframsaures Natron in Wasser zu ziemlich concentrirter Lösung und säuert diese stark mit Salzsäure an. Verwendung wie Jodquecksilberkalium.

35. Schwefeleisen käuflich, dient in grössere Stücke zerschlagen zur Schwefelwasserstoffgas-Entwickelung.

Schwefelwasserstoff.

Das Schwefelwasserstoffgas entwickelt man aus Schwefeleisen und

verdünnter Schwefelsäure in einer hinreichend weithalsigen Flasche. Der Kork derselben ist doppelt durchbohrt, durch die eine Bohrung geht ein langes Trichterrohr bis zum Boden der Flasche hinab, in der anderen Bohrung ist ein rechtwinkelig gebogenes Röhrchen befestigt, durch welche das entwickelte Gas den Apparat verlässt. Die Röhren müssen im Korke sowie dieser im Flaschenhalse gut luftdicht eingesetzt sein. Mit dem rechtwinkeligen Röhrchen ist die auf den Boden einer mit etwas Wasser gefüllten Waschflasche hinabreichende Röhre verbunden. Aus der Waschflasche leitet man das Gas in die zu behandelnde Flüssigkeit. Man bringt zunächst Stücke von Schwefeleisen in die Entwickelungsflasche, giesst nach Verschliessung der Flasche zunächst durch die Trichterröhre Wasser ein, so dass die Stücke völlig unter dessen Niveau sind, giesst dann allmälig englische Schwefelsäure durch die Trichterröhre ein und erhält durch öfteren weiteren Zusatz derselben die Entwickelung im Gange so lange als man derselben bedarf. Soll die weitere Entwickelung sistirt werden, so öffnet man die Entwickelungsflasche, giesst die Flüssigkeit in eine andere Flasche ab und etwas Wasser auf das zurückgebliebene Schwefeleisen.

Die grosse Anzahl der übrigen empfohlenen Schwefelwasserstoffapparate sind theils zu complicirt, theils vermeiden sie noch weniger als der obige einfache Apparat Störungen während der verlangten Entwickelung und der Geruch wird doch nicht vermieden.

Schwefelammonium

bereitet man durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in ein Volumen Aetzammoniakflüssigkeit bis zur Sättigung mit dem Gase und Zusatz von $^2/_3$ Volumen nicht mit Schwefelwasserstoff behandelter Ammoniakflüssigkeit. Man bewahrt es am Besten in kleinen ganz damit gefüllten Flaschen auf, da es sich an der Luft zuerst unter Gelbfärbung und nachheriger Abscheidung von Schwefel zerlegt.

Chlorgas

36. entwickelt man, indem man in einem hinreichend geräumigen Kolben am Besten auf 18 Theile grobkörniges Kochsalz gemengt mit 15 Theilen feingepulvertem Braunstein eine völlig erkaltete Mischung von 45 Theilen englischer Schwefelsäure und 21 Theilen Wasser giesst. Man schüttelt sofort die Mischung gut um und setzt auf den Kolben einen gut schliessenden Kork, der in einer Durchbohrung ein rechtwinkelig gebogenes Röhrchen trägt, welches mittelst Kautschukrohr mit einer Waschflasche verbunden ist. Das sofort sich entwickelnde

Chlorgas strömt zunächst in die Waschflasche, in welcher sich ein wenig über 10° warmes Wasser befindet, und geht von da in die damit zu behandelnde Flüssigkeit. Beginnt die Entwickelung nachzulassen, so unterstützt man sie durch Erwärmen des Kolbens. Statt der angegebenen Mischung kann man auch Braunstein direct in concentrirte rohe Salzsäure, die sich bereits im Kolben befindet, schnell einschütten, gut umschütteln, den Kork aufsetzen und, wenn die Entwickelung nachlässt, erwärmen, doch ist darauf zu achten, dass die Mischung dünnflüssig sei.

Chlorwasser

bereitet man durch Sättigen von destillirtem Wasser mit Chlorgas bei etwa 10 bis 20° Temperatur. Man bewahrt das Chlorwasser am Besten in einer Flasche auf, die sich in einem Pappfutteral befindet, da es sich im Lichte bald zerlegt. Es soll stark nach Chlorgas riechen.

Chlorkalk käuflich.

Unterchlorigsaures Natron

stellt man dar durch Ausfällen wässeriger Chlorkalklösung mit Natriumcarbonat, Decantiren und, wenn nöthig, Filtriren durch Asbest oder Glaswolle.

Lackmuslösung.

37. Vogel's Vorschrift: 16 Grm. käufliches Lackmus werden fein gepulvert in einem Cylinderglase mit 120 CC. kalten destillirten Wasser übergossen und 24 Stunden unter öfterem Umschütteln stehen gelassen. Dieser das freie Alkali enthaltende Auszug wird fortgegossen und der Rückstand im Cylinderglase wieder mit 120 CC. Wasser 24 Stunden stehen gelassen, abgegossen, in zwei gleiche Theile getheilt, der eine Theil mit verdünnter Salpetersäure versetzt, bis die Flüssigkeit eben roth erscheint, und dann mit dem anderen Theile vermischt, wodurch eine röthlich blaue Flüssigkeit entsteht. Diese wird ohne Kochen zur Trockne abgedampft und der Rückstand in wohlverschlossenem Glase aufbewahrt; er löst sich völlig und leicht in Wasser. (Chem. Centralbl. 1863. No. 3.)

Vorschrift von Berthelot und de Fleurieu: Concentrirte wässerige Lackmuslösung wird mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, einige Minuten im Sieden erhalten, dann nach theilweisem Erkalten mit Barytwasser bis zur deutlichen Blaufärbung versetzt. Durch Einleiten von Kohlensäure und Aufkochen wird der Barytüberschuss gefällt, filtrirt und die Flüssigkeit mit $^1/_{10}$ Volumen Weingeist versetzt. (Ann. de chim. et de phys. [4] F. 5. p. 177.)

Hämatoxylintinctur und Hämatoxylinpapier.

Wildenstein's Vorschrift: Man zerspaltet ein gutes Stück Blauholz, entnimmt von der frischen Fläche mit einem Hobel Spähne von rein gelber (nicht rother) Farbe, bringt dieselben in eine verschliessbare Flasche, möglichst dicht zusammengedrückt, übergiesst sie mit Alkohol, lässt 24 Stunden stehen, giesst dann die noch schwache Tinctur auf eine gleiche Menge Spähne in einer anderen Flasche und wechselt nach 24 Stunden nöthigenfalls die Spähne. Die so erhaltene Tinctur hat eine röthlichgelbe, mit vielem Wasser verdünnt eine fast citronengelbe Farbe. Sie ist vor Ammoniak gut zu verwahren; in gut verschlossenen Flaschen hält sie sich lange unverändert.

Man tränkt mit der Tinctur Streifen von schwedischem Filtrirpapier, das vorher mit Salzsäure, dann mit Wasser völlig ausgewaschen und getrocknet war. Nun trocknet man die Papierstreifen in warmer, ammoniakfreier Luft (am Besten im Trockenapparate über Schwefelsäure) und bewahrt sie in gut verkorkten Flaschen auf. Das Papier soll die Farbe des Nanking haben. Freies Ammoniak, Alkalien und alkalische Erden erzeugen je nach der Natur und Menge rothe, violette und veilchenblaue Färbung. Brunnenwasser röthet das Papier schwach. Eine Flüssigkeit, die ein Milliontel Ammoniak enthalt, giebt mit einigen Tropfen der Tinctur noch orangerothe Färbung. Eisen-, Blei-, Zinn-, Kupfer und Antimonsalze geben mit der Tinctur noch bei sehr grosser Verdünnung bemerkbare violette oder blauschwarze Färbung. (Zeitschr. f. analyt. Chem. 1863. Bd. 3. S. 10).

Indigolösung.

Man reibt einen Theil fein pulverisirten Indigo allmälig mit 5 Theilen rauchender Schwefelsäure zusammen, trägt die dicke Masse in 20 Theile Wasser ein und stumpft die freie Schwefelsäure mit kohlensaurem Kalk ab und filtrirt. Man benutzt die Indigolösung zur Entdeckung oxydirender Stoffe wie Salpetersäure und reducirender Körper, z. B. Harnzucker.

Die Indigolösung ist gut verschlossen aufzubewahren.

Alizarinlösung.

E. Schaal empfiehlt als sehr scharfen Indicator beim Titriren von Säuren und Alkalien eine Lösung von Alizarin anzuwenden, die er in folgender Weise darstellt. Ueberschüssiges Alizarin wird mit einem Tropfen Carbolsäure in Kalilauge kochend gelöst, nach Erkalten das ausgeschiedene Alizarin abfiltrirt. Der Carbolsäurezusatz macht die Lösung haltbarer. Man übersättigt die Lösung mit Säure

und fügt dann vorsichtig Lauge hinzu, bis die gelbe Farbe in Rosa übergeht. Die alkalische Beschaffenheit von Brunnen- und destillirtem Wasser ist durch die Rothfärbung mit diesem Reagens leicht nachzuweisen. Papierstreifen, die mit einer alkoholischen Alizarinlösung einerseits, und solche, die mit obiger Lösung andererseits getränkt sind, ersetzen rothes und blaues Lackmuspapier. (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1873. VI. S. 1180.)

Rosolsäure

käuflich. 2 bis 3 gr. werden in 1 Liter Alkohol gelöst, durch Barytzusatz neutralisirt. Vortreffliches Reagens für alkalimetrische Bestimmungen zur Feststellung der Neutralität, besonders brauchbar für Säuren, die in Wasser unlöslich, in Alkohol oder Aether löslich sind.

Alkanna.

Man bereitet alkoholische oder ätherische Lösung durch Extraction der rothen Lage der Rinde von Alkannawurzel oder des käuflichen Alkannaroths. In saurer Lösung roth, in alkalischer blau. Zur Titrirung in Wasser unlöslicher Säuren in Alkohol oder Aether.

Tropaeolin OO (Oxynaphtylazophenylsulfonsäure)

entweder in alkoholischer Lösung oder nach Verdunsten derselben auf Papier oder Porcellan ihr Rückstand zu Reactionen zu verwenden. Es wird von schwachen Säuren wie CO_2, Essigsäure, Borsäure, arsenige Säure nicht verändert, durch Weinsäure, Citronensäure u. s. w. roth gefärbt, durch Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Oxalsäure u. s. w. lila bis schwarz.

Tropaeolin OOO No. 1. (Kaliumverbindung der Phenylamidoazobenzolsulfonsäure) giebt mit fixen Alkalien carmesinrothe Färbung, ebenso aber schwächer mit den Carbonaten, Boraten anderer Verbindungen derselben. Die Alkaliphosphate mit 2 Aequival. Metall röthen den Farbstoff, die mit 2 Aequival. röthen schwach nur in concentrirter Lösung, die Monophosphate gar nicht. Die beiden Tropäoline sind werthvoll zur Auffindung schwacher Säuren und schwach basischer Körper. (Vergl. Danilewski, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1880. No. 51).

III. ABTHEILUNG.

Zusammensetzung, Eigenschaften und Methoden des Nachweises der einzelnen anorganischen und organischen Stoffe.

I. Anorganische Stoffe.

38. Jeder Theil eines thierischen oder menschlichen Körpers, sei er eine mit Flüssigkeit imbibirte geformte Masse, wie Fleisch, Drüsensubstanz, sei er wie z. B. die Secrete eine Flüssigkeit, lässt sich in Wasser und eine Anzahl fester Körper zerlegen. In jedem Organe eines Thieres, in jeder seiner Flüssigkeiten sind C, H, N, O, S in verschiedenen chemischen Combinationen enthalten; alle hinterlassen ferner beim Glühen mehr oder weniger Asche. Die chemischen Stoffe, welche man als Bestandtheile des Körpers kennen gelernt hat, werden in organische und anorganische eingetheilt, je nachdem dieselben Kohlenstoff enthalten oder nicht. Die Aschen können abgesehen von der Kohlensäure nie organische Stoffe enthalten, aber sie stellen durchaus nicht immer die Gesammtheit der anorganischen Stoffe dar, welche in der geglühten Substanz enthalten waren, da Ammoniakverbindungen beim Erhitzen leicht verflüchtigt werden, auch Schwefelsäure, Salzsäure, Phosphorsäure, wenn sie nicht mit feuerbeständigen Basen verbunden sind, beim Glühen verdampfen oder sich zerlegen. Die Bildung der Aschen ist sonach zunächst abhängig vom Vorhandensein von in schwacher Glühhitze nicht flüchtigen Metallen.

Die Betrachtung der anorganischen Stoffe ist der der organischen im Folgenden vorausgeschickt, da sie eine ziemlich gut abgegrenzte Classe bilden, soweit sie die Bestandtheile der Aschen sind. Das Ammoniak und seine Verbindungen bilden dann gleichsam den Uebergang zu den organischen Stoffen, aus denen es bei der Zersetzung derselben fast immer entsteht, wenn diese Stoffe Stickstoff enthalten.

Die sämmtlichen in diesem Lehrbuche angegebenen Formeln beziehen sich auf die Atomgewichte H = 1, C = 12, O = 16, N = 14,04 u. s. w., vergl. im Anhang Tabelle II.

Die Alkalimetalle.

39. Kalium und Natrium finden sich fast in jeder thierischen Asche neben einander; selten ist auch Lithium nachgewiesen. Die Verbindungen der Alkalimetalle, welche in den thierischen Organen und den daraus gewonnenen Aschen vorkommen, sind fast sämmtlich in Wasser leicht löslich, werden aus ihren wässerigen Lösungen weder durch kohlensaures noch durch oxalsaures Ammoniak gefällt, sind in der Rothglühhitze nicht bemerkbar flüchtig, schmelzen dagegen in der Weissglühhitze und verflüchtigen sich dann allmälig unter Nebelbildung. Am Flüchtigsten sind die kohlensauren und die Chlorverbindungen, weniger die schwefelsauren und phosphorsauren Salze dieser Metalle. Am Leichtesten flüchtig sind die Kaliumverbindungen, am Wenigsten die Natriumverbindungen. Lithium steht in der Mitte. (Bunsen, Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. 111. S. 262.)

Kalium K.

40. Kalium findet sich besonders in der Asche der Muskeln, rothen Blutkörperchen, der Nerven, des Eidotter, der Milch, verbunden mit Chlor oder Schwefelsäure oder Phosphorsäure.

Man erkennt das Kalium in den Lösungen seiner Verbindungen an seinem Verhalten 1) gegen Platinchlorid, 2) gegen Weinsäure. Die Kalisalze geben nämlich in nicht sehr verdünnten Lösungen 1) mit einigen Tropfen Platinchlorid versetzt einen orangegelben, fein krystallinischen Niederschlag von Kaliumplatinchlorid, der in Wasser schwer, in Säuren leichter löslich, in Alkohol und Aether fast ganz unlöslich ist; 2) mit Weinsäure einen weissen krystallinischen Niederschlag von saurem weinsauren Kali, wenn die Lösung ziemlich neutral oder von organischen Säuren sauer war. Das saure weinsaure Kali löst sich in 180 Thl. kaltem Wasser, ist also die Lösung sehr verdünnt, so entsteht kein Niederschlag. Ist die Lösung nicht sehr concentrirt, so bildet sich der Niederschlag nur allmälig; Umschütteln beschleunigt seine Bildung. Abfiltrirt, getrocknet und geglüht giebt dieser Niederschlag einen kohligen Rückstand, der mit

Wasser befeuchtet Lackmus stark blau färbt und mit Säuren braust. Aus nicht allzuverdünnten Lösungen wird Kalium durch Phosphormolybdänsäure gefällt, der Niederschlag ist gelb und feinpulverig wie phosphormolybdänsaures Ammoniak.

Kaliumverbindungen färben die Spiritus- oder Gasflamme violett. Zu dieser Prüfung glüht man zunächst das zum Oehr umgebogene Ende eines reinen dünnen Platindrahtes in der Flamme, bis keine leuchtenden Dämpfe mehr davon ausgehen, taucht ihn dann in die zu prüfende möglichst concentrirte Lösung oder nach Anfeuchten mit einem Tröpfchen Wasser in die Asche selbst, welche zu untersuchen ist, bringt dann das Oehr des Drahtes in den äusseren Saum der Flamme und beobachtet die davon ausgehende Färbung der letzteren. Ist Kalium fast allein zugegen, so erhält die Flamme über dem Platinöhr die bezeichnete violette Färbung, ist dagegen viel Natrium neben Kalium in der geprüften Substanz, so kann man das intensive Natriumlicht dadurch vom Auge abhalten, dass man die Flamme durch ein mit einer passend verdünnten Indigolösung gefülltes Glas mit parallelen Wandungen oder ein Hohlprisma beobachtet oder noch einfacher durch ein tiefblaues Kobaltglas. Dies letztere sowie die Indigolösung absorbiren das Natriumlicht stark, lassen dagegen das Kaliumlicht wenig geschwächt hindurchgehen.*)

Die spectralanalytische Untersuchung des Kalium siehe § 18.

Bei allen Untersuchungen auf Alkalimetalle u. s. w. durch Flammenfärbung ist es unerlässlich, dass keine organische Stoffe, auch keine Kohle in der zu prüfenden Substanz enthalten sind, sowie dass die Gas- oder Spiritusflamme mit bläulichem Lichte brennt.

Natrium Na.

41. Natrium findet sich besonders reichlich im Blutplasma, Harn, Pancreassecret, Galle des Menschen und der meisten Thiere, in serösen Transsudaten gebunden an Chlor, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Kohlensäure und andere organische Stoffe, als Milchsäure, Harnsäure u. s. w.

Selbst die concentrirten Lösungen von Natriumverbindungen werden durch Platinchlorid oder Weinsäure oder Phosphormolybdänsäure nicht gefällt. Eine frisch bereitete Lösung von antimonsaurem

---

*) Cartmell, Philos. Magaz. Novbr. 1858.

Kali giebt in nicht sehr verdünnten, neutralen oder schwach alkalischen Lösungen von Natronsalzen einen weissen krystallinischen Niederschlag von antimonsaurem Natron. Dieser Niederschlag löst sich in 300 bis 400 Thl. kaltem, leichter in heissem Wasser.

Den besten Nachweis des Natrium liefert die strahlend gelbe Flamme, welche man erhält, wenn man in gleicher Weise eine natriumhaltige Substanz in die Flamme bringt, wie es oben bezüglich der gleichen Prüfung auf Kalium (im vorigen Paragraphen) angegeben ist. Diese Reaction ist so scharf, dass nicht mehr sichtbare Staubtheilchen am Platinöhr diese Färbung deutlich erkennbar erzeugen, wenn gleich sehr vorübergehend. Ist in einer Substanz nicht zu geringe Spur von Natrium enthalten, so tritt dauerndes und intensiv strahlendes Leuchten ein. Beleuchtet man mit der gelben Natriumflamme Krystalle von saurem chromsaurem Kali oder eine mit Quecksilberjodid bestrichene Papierfläche, so erscheinen erstere farblos, letztere weiss.

Den Nachweis mittelst Spectralanalyse siehe § 18.

Lithium Li.

42. Lithium ist mittelst Spectralanalyse in Fleisch, Blut und Milch von Thieren, die lithiumhaltiges Futter genossen, einige Male in Spuren nachgewiesen.

Es färbt die Gas- oder Weingeistflamme intensiv roth, wenn es auf die oben § 40 geschilderte Weise im Oehr des Platindrahtes geprüft wird.

Zur Prüfung einer Asche auf Spuren von Lithium fällt man zuerst durch Barytwasser die Phosphorsäure, filtrirt, und fällt im Filtrate den Baryt durch verdünnte Schwefelsäure, erwärmt auf dem Wasserbade, filtrirt, dampft das Filtrat ein und erhitzt den Rückstand zur Entfernung der freien Schwefelsäure, indem man zuletzt einige Stückchen kohlensaures Ammoniak in den Tiegel bringt. Nach dem Erkalten laugt man die Masse mit absolutem Alkohol aus, filtrirt, dampft ein und prüft den Rückstand mittelst Spectralanalyse (s. § 18).

Calcium und Magnesium.

43. Calcium und Magnesium finden sich fast in allen Theilen der thierischen Organe. Strontium kommt gleichfalls bei Fütterung

mit Strontium enthaltenden Nährstoffen vor. Calcium und Magnesium unterscheiden sich von den Alkalimetallen durch die Unlöslichkeit ihrer neutralen kohlensauren und phosphorsauren Salze in Wasser und grössere Feuerbeständigkeit.

Calcium Ca. In Knochen und Zahnsubstanzen reichlich abgelagert, in geringerer Menge in jeder thierischen Flüssigkeit, in vielen pathologischen Producten, Verkalkungen an Arterien, im Knorpel, Tuberkelmassen, in Venensteinen, Harn-, Gallen-, Speichel-, Pancreassteinen reichlich. Das Calcium betrachtet man als in diesen Ablagerungen gebunden an Phosphorsäure, Kohlensäure, Fluor, Chlor, in den Lösungen als gebunden an Phosphorsäure oder Kohlensäure oder organische Säuren, in den Fäces gebunden an Schwefelsäure und organische Säuren sowie Kohlensäure und Phosphorsäure.

Kalksalze werden gefällt:

1) Durch Oxalsäure oder oxalsaures Ammoniak in neutralen, alkalischen oder durch Essigsäure sauren Lösungen. Der weisse, sehr feinkörnige, zuweilen schwer filtrirbare Niederschlag, oxalsaurer Kalk, ist unlöslich in Wasser oder Alkohol, wird beim vorsichtigen Glühen ohne Verkohlung in kohlensauren Kalk, beim heftigen Weissglühen besonders im Luft- oder Wasserdampfstrom in Aetzkalk verwandelt.

2) Durch neutrale kohlensaure Alkalien in neutraler oder alkalischer Lösung. Der feine, weisse Niederschlag, kohlensaurer Kalk, ist leicht löslich in Säuren unter Aufbrausen. Saure kohlensaure Alkalien fällen die Kalksalze nicht oder nicht vollständig, dagegen entsteht nach ihrem Zusatz ein Niederschlag beim Kochen der Mischung.

3) Durch phosphorsaures Natron in neutraler oder alkalischer Lösung. Der weisse, flockige, gallertige Niederschlag, phosphorsaurer Kalk, ist leicht löslich in Säuren, auch in citronensaurem Ammoniak, unlöslich in Alkalilösungen.

4) Durch Schwefelsäure oder schwefelsaure Salze in nicht zu verdünnten wässerigen, vollständig in weingeistigen Lösungen. Der bald krystallinisch werdende Niederschlag, schwefelsaurer Kalk, ist löslich in 400 bis 500 Theilen Wasser, etwas leichter in Säuren oder concentrirten Salzlösungen, unlöslich in Alkohol.

Die salpetersauren und Chlorverbindungen des Calcium oder andere Kalksalze mit Salzsäure befeuchtet färben die Gas- oder Weingeistflamme gelbroth.

Magnesium Mg. findet sich in geringer Quantität als fast steter Begleiter des Calcium in thierischen Organen; reichlich ist es gewöhnlich im Harne, auch in den Fäces enthalten, fast stets in Verbindung mit Phosphorsäure, oft als phosphorsaure Magnesia-Ammoniak in Krystallen (fauler Harn, Fäces etc.). Die Lösungen der Magnesium-Verbindungen werden durch schwefelsaure oder oxalsaure Alkalisalze aus verdünnten Lösungen nicht gefällt, dagegen treten Fällungen ein:

1) Bei Gegenwart von Chlorammonium durch Aetzammoniak und phosphorsaures Natron als allmälig entstehender, krystallinischer, in reinem Wasser sehr wenig, in Säuren auch in Essigsäure leicht löslicher weisser Niederschlag, phosphorsaure Magnesia-Ammoniak.

2) Durch kohlensaures Natron in neutraler Lösung bei Abwesenheit von Ammoniakverbindungen. Die Fällung ist nur durch Kochen der Mischung vollständig zu erhalten. Der bei gewöhnlicher Temperatur dargestellte weisse gallertige Niederschlag ist basische kohlensaure Magnesia.

Bei Gegenwart einer hinreichenden Menge von Ammoniaksalzen, z. B. Chlorammonium, entsteht in Lösungen der Magnesiasalze durch kohlensaures Kali oder Natron zunächst kein Niederschlag. Saure kohlensaure Alkalien fällen Magnesiasalze gar nicht; durch kohlensaures Ammoniak werden sie theilweise gefällt und bei Gegenwart von Chlorammonium tritt erst sehr spät schwache Fällung ein.

3) Durch Aetzkali, Natron, Kalk oder Barytwasser wird aus Lösungen der Magnesiasalze Magnesiahydrat als flockiger Niederschlag ausgeschieden. Bei der Temperatur der Gas- oder Spiritusflamme giebt Magnesium keine leuchtende Flamme.

Eisen und Mangan.

44. Eisen findet sich im rothen Farbstoffe des Blutes der Wirbelthiere, daher reichlich als Eisenoxyd in der Asche des Blutes, welche durch dasselbe roth gefärbt erscheint. Ausser dem Blut ist besonders die Galle noch eisenhaltig, doch ist die Quantität hier schon sehr unbedeutend und in den übrigen thierischen Flüssigkeiten und Geweben zeigen sich nur Spuren davon, so z. B. im Harne. Freilich kann es im Inhalte des Darmcanals sich reichlich finden, da die Speisen fast stets eisenhaltig sind.

Bei der Prüfung auf Eisen hat man sehr darauf zu achten, dass die Reagentien und das benutzte Filtrirpapier eisenfrei seien, und dass kein Staub Eisenpartikel in die Flüssigkeit trägt.

In Leichen hat sich theils im Darmcanale, theils in verschiedenen Organen oft Vivianit, phosphorsaures Eisenoxydoxydul, gefunden, das einer Zersetzung der organischen Stoffe durch Fäulniss und Reduction des Eisenoxydes wohl stets seine Entstehung verdankt.

Mangan findet sich sehr häufig in geringen Spuren als Begleiter des Eisens in der Blutasche und in der Asche der Galle, doch ist sein Vorkommen in diesen Aschen durchaus nicht constant.

Beide Metalle sind in den hier in Betracht kommenden Verbindungen durchaus nicht flüchtig in der heftigsten Weissglühhitze; sie veranlassen also auch, wenn man sie in die Flamme des Brenners bringt, keine besondere Flammenfärbung; trotzdem kann es bei Veraschungen leicht geschehen, dass durch die entweichenden Gase wägbare Quantitäten von Eisenoxyd fortgerissen werden. Das Eisen findet sich in den Aschen nach völligem Verbrennen der Kohle stets als Eisenoxyd frei oder an Phosphorsäure gebunden. Das Mangan wandelt sich, wenn die übrigen Bestandtheile seiner Verbindungen flüchtig sind, beim Glühen in Oxyduloxyd um und so, meint man, sei es auch in Aschen enthalten; ist jedoch kohlensaures Alkali zugegen, so geht es beim Glühen an der Luft in Mangansäure über und dies liefert beim Auslaugen der Asche mit Wasser einen flockigen Niederschlag von Manganhyperoxydhydrat.

Eisen Fe.

45. A. Lösungen, welche Eisen als Oxydul enthalten, werden gefällt:

1) Durch ätzende Alkalien flockig weiss (Eisenoxydulhydrat); der Niederschlag wird schnell grün, endlich rothbraun (Eisenoxydhydrat).

2) Durch Schwefelammonium in neutraler Lösung als flockiger, schwarzer Niederschlag, der sich aus verdünnten Lösungen allmälig, in der Wärme schneller absetzt; so lange die Ausfällung noch nicht völlig beendet ist, erscheint die Flüssigkeit grün gefärbt. Der Niederschlag, Schwefeleisen, ist leicht zerlegbar durch Mineralsäuren, wird an der Luft roth durch Oxydation zu basisch schwefelsaurem Eisenoxyd. In Schwefelammonium ist das Schwefeleisen völlig unlöslich.

3) Durch Ferrocyankalium in neutraler oder salzsaurer Lösung. Der weisse Niederschlag wird an der Luft schnell zu Berliner Blau umgewandelt.

4) Durch Ferridcyankalium in neutraler oder salzsaurer Lösung. Der blaue Niederschlag ist Turnbullsblau.

Die Eisenoxydulverbindungen nehmen aus der Luft Sauerstoff auf und gehen allmälig in Oxydverbindungen über. Dieselbe Umwandlung wird durch Zusatz von übermangansaurem Kali oder durch Kochen mit Salpetersäure sofort erreicht.

B. Die Lösungen, welche das Eisen als Oxyd enthalten, werden gefällt:

1) Durch ätzende oder kohlensaure Alkalien. Der flockige, rothbraune, gallertige Niederschlag enthält Alkali und besteht im Uebrigen aus Eisenoxydhydrat, ist unlöslich in überschüssigem Alkali und verwandelt sich beim Erhitzen in pulveriges Eisenoxyd.

Befindet sich in der Lösung Weinsäure in hinreichender Menge, so treten diese Fällungen nicht ein.

2) Durch Schwefelammonium in neutraler oder alkalischer Lösung (auch bei Gegenwart von Weinsäure). Der schwarze Niederschlag (grüne Färbung bei starker Verdünnung) besteht aus Schwefeleisen; der Bildung des Letzteren geht eine Reduction des Oxydes zu Oxydul voran, bei der zugleich Schwefel abgeschieden wird.

3) Durch Ferrocyankalium in neutraler oder salzsaurer Lösung. Der blaue Niederschlag, Berliner Blau, wird durch Aetzalkali in Eisenoxydhydrat und Ferrocyanmetall zerlegt.

4) Durch Gallustinctur in neutraler Lösung schwarz (Dinte).

5) Durch phosphorsaures Natron in neutraler oder essigsaurer Lösung. Der gelblichweisse, flockige Niederschlag, phosphorsaures Eisenoxyd, ist unlöslich in Essigsäure, etwas löslich in überschüssigem Ammoniak, phosphorsaurem Natron oder essigsaurem Eisenoxyd.

6) Durch bernsteinsaures oder benzoësaures Ammoniak in neutraler Lösung; der rothbraune Niederschlag ist bernsteinsaures oder benzoësaures Eisenoxyd.

7) Durch Digeriren mit kohlensauren alkalischen Erden; der Niederschlag ist Eisenoxydhydrat und basisches Salz.

Durch Schwefelcyankalium werden selbst sehr verdünnte Lösungen von Eisenoxyd schön blutroth gefärbt, wenn die Lösung etwas freie Salzsäure enthält.

Schwefelwasserstoff fällt Eisen aus seinen Lösungen in verdünnten Mineralsäuren nicht, reducirt aber beim Erwärmen das Oxyd zu Oxydul unter Abscheidung von Schwefel. Metallisches Zink reducirt das Eisenoxyd in salzsaurer Lösung schnell zu Oxydul.

Mangan Mn.

46. Das Manganoxydul wird aus seinen Lösungen gefällt:

1) Durch Kali- oder Natronlauge als weisses Oxydulhydrat, welches an der Luft schnell in braunes Oxyduloxydhydrat übergeht. Durch Aetzammoniak wird das Oxydul bei Gegenwart von Ammoniaksalzen und Ausschluss der Luft nicht gefällt.

2) Durch Schwefelammonium in concentrirter Lösung sogleich, in verdünnter allmälig als gelblicher oder fleischrother Niederschlag, Schwefelmangan, welcher in Schwefelammonium unlöslich ist, an der Luft bald braun wird durch Umwandlung in Oxyduloxydhydrat. Bei Gegenwart von viel Aetzammoniak ist Mangan schwer aus verdünnten Lösungen durch Schwefelammonium fällbar.

3) Durch kohlensaure oder phosphorsaure Alkalien, weisser Niederschlag. Durch kohlensaure alkalische Erden wird das Oxydul nicht gefällt.

Aus essigsaurer Lösung wird Mangan durch Schwefelwasserstoff nicht gefällt, auch nicht durch kohlensauren Baryt aus salzsaurer Lösung.

Eine Probe einer manganhaltigen Substanz mit etwas trockner Soda und Salpeter auf Platinblech heftig geglüht, giebt eine blaugrüne geschmolzene Masse (mangansaures Alkali, sehr scharfe und sichere Probe).

Erhitzt man eine manganhaltige Substanz mit etwas syrupöser Phosphorsäure und Salpeter im Porzellantiegel, so erhält man eine schöne, violette, geschmolzene Masse von phosphorsaurem Manganoxyd.

Bringt man in einem Probirröhrchen auf etwas Bleihyperoxyd oder Mennige etwas von einer chlorfreien manganhaltigen Flüssigkeit, fügt verdünnte Salpetersäure hinzu und erhitzt zum Sieden, so tritt schöne violette Färbung der Flüssigkeit durch gebildete Uebermangansäure ein.

Kupfer Cu.

47. Das Vorkommen von Kupfer in Leber und Galle der Menschen und Säugethiere ist fast constant, im Blute von Menschen ist es öfter in Spuren nachgewiesen; im Blute einiger Krebs- und Schneckenarten, auch im Blute von Cephalopoden ist es reichlich und constant gefunden.

In welcher Verbindung das Kupfer in diesen thierischen Theilen sich befindet, ist unbekannt.

Bei Darstellung der Aschen kupferhaltiger organischer Massen durch Glühen bei Luftzutritt wird es stets als Oxyd gewonnen.

Die Lösungen des Kupferoxydes werden gefällt:

1) Durch Kali- oder Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur als gelatinöser, flockiger, blauer Niederschlag, Kupferoxydhydrat. Dieser Niederschlag entsteht nicht bei Gegenwart von viel Ammoniak oder gewisser organischer Stoffe. Das Oxydhydrat verwandelt sich beim Kochen der Flüssigkeit, in der es suspendirt ist, in schwarzes, feinflockiges oder pulveriges Oxyd mit weniger Hydratwasser.

2) Durch Schwefelwasserstoff in verdünnter, saurer, neutraler Lösung als schwarzes, flockiges, in Wasser oder Schwefelammonium ein wenig lösliches Schwefelkupfer.

3) Durch kohlensaures Natron als grünlich blaues, basisch kohlensaures Kupferoxyd.

4) Durch Ferrocyankalium als kapuzinerbraunes Ferrocyankupfer (in sehr verdünnter Lösung entsteht nur braune Färbung derselben).

5) Durch metallisches Eisen oder Zink als metallisches Kupfer, welches das in die Lösung gestellte Eisen- oder Zinkstück als cohärente Schicht überzieht.

6) Durch Traubenzucker in alkalischer Lösung und Abwesenheit von Ammoniak als gelbes oder rothes Kupferoxydul.

Aetzammoniak oder kohlensaures Ammoniak bewirken in neutralen oder sauren Lösungen zunächst Niederschläge, beim Zusatz eines Ueberschusses jedoch eine noch bei geringem Kupfergehalte der Lösung bemerkbare blaue Färbung der wieder klar gewordenen Flüssigkeit durch gelöstes Kupferoxydammoniak.

Alle Kupfersalze färben besonders nach Zusatz von etwas Salzsäure die Gas- oder Weingeistflamme schön grün.

Den Nachweis siehe im folgenden Paragraphen.

Blei Pb.

48. Blei ist hier und da im Blute in Spuren nachgewiesen, zuweilen auch in der Leber. Bei Bleikranken ist es in den Knochen, Muskeln, Leber, Harn gefunden.

So wie das Kupfer wird das Blei durch Schwefelwasserstoff aus nicht zu saurer Lösung als Schwefelmetall ausgeschieden. Durch Elektrolyse erhält man es (wie das Kupfer) selbst aus den verdünntesten Lösungen am positiven Pole als Metall. In Salpetersäure wird das Blei ebenso wie Schwefelblei leicht gelöst, während es durch Salzsäure aus concentrirter, durch Schwefelsäure auch aus verdünnter Lösung in Verbindung mit diesen Säuren abgeschieden wird. In kochendem Wasser löst sich das Chlorblei ziemlich reichlich.

Um Kupfer oder Blei in Flüssigkeiten oder Organen nachzuweisen, bedient man sich mit Vortheil der Elektrolyse: Man mischt die zu prüfende Substanz, die möglichst mechanisch vorher zu zerkleinern ist, in einer Porzellanschale mit verdünnter Salzsäure und trägt unter Erhitzen der Mischung auf dem Wasserbade allmälig kleine Portionen chlorsaures Kali ein, so lange bis die Flüssigkeit hellgelb geworden ist und die organischen Stoffe nur gelblichweisse, flockige oder faserige Massen hinterlassen haben. Man filtrirt jetzt ab, wäscht den Niederschlag einige Male mit heissem Wasser aus und engt die Flüssigkeit im Wasserbade auf ein kleines Volumen ein (färbt sie sich dabei dunkelbraun, so fügt man noch ein wenig chlorsaures Kali hinzu). Man giesst dann die concentrirte, noch saure Lösung in eine Flasche, deren Boden abgesprengt und durch ein wasserdicht übergebundenes Stück gutes vegetabilisches Pergament ersetzt ist, und hängt diese Zelle in einem Becherglase von etwas grösserem Durchmesser, welches mit verdünnter Schwefelsäure zum Theil gefüllt ist, so auf, dass das Niveau der Flüssigkeit in der Zelle und dem Becherglase ungefähr gleich hoch stehen, bringt ein Stück Platinblech an einem hinreichend starken Platindraht befestigt in der Weise unter den Pergamentboden der Zelle, dass es horizontal und ziemlich dicht an dem Boden anliegt, ein gleiches mit Platindraht verbundenes Platinblech in die Zelle ein, so dass es horizontal über dem Pergament liegt, und verbindet den ersteren Draht mit dem positiven, den letzteren mit dem negativen Pole einer galvanischen Batterie von etwa 4 Grove'schen oder Bunsen'schen Elementen. Sofort soll sich Entwickelung von Gasen an beiden Elektroden ein-

stellen; ist sie zu stürmisch, so schaltet man ein Element fürs Erste aus. Man lässt etwa 6 Stunden den Strom in Thätigkeit (ist die Quantität der Flüssigkeit gross, etwas länger, ist sie klein, so sind ein paar Stunden völlig ausreichend), unterbricht dann die Leitung, nimmt Platindraht und Blech aus der Zelle, spült ein paar Male mit destillirtem Wasser ab und stellt sie dann in ein Probirglas in verdünnte Salpetersäure, erhitzt zum Kochen, giesst die Lösung ab und verdunstet in einer kleinen Schale auf dem Wasserbade. Ist Blei vorhanden, so giebt der Rückstand mit einem Tropfen verdünnter Schwefelsäure einen weissen Niederschlag, der abfiltrirt, mit dem Filter getrocknet und mit Soda auf Kohle mittelst des Löthrohrs zum Schmelzen erhitzt regulinisches Blei giebt, welches durch Waschen, Schlemmen mit Wasser in einer Reibschale gereinigt und durch Reiben zum Blech ausgewalzt wird. Ist dagegen Kupfer zugegen, so giebt der obige Rückstand auch nach dem Zusatz von Schwefelsäure (behufs Prüfung auf Blei) mit Aetzammoniak im Ueberschusse dunkelblaue Lösung und nach dem Verdunsten dieser Lösung und Ansäuern mit Salzsäure, mit Ferrocyankalium einen braunen Niederschlag. Schon beim Herausnehmen der Elektrode aus der Zelle erkennt man, ob eine Ablagerung eines rothen oder grauen Metalls stattgefunden hat. Die oben angegebenen Reactionen der Metalle dienen zur weiteren Bestätigung. Eingehende Untersuchungen und Vergleichung der Methoden zum Nachweis von Blei, Kupfer, Quecksilber siehe V. Lehmann, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Band 6. S. 1 und S. 528.

Quecksilber Hg.

49. Nach langem Mercurgebrauche findet sich Quecksilber in Leber und Harn der Menschen, wenn auch nicht constant.

Die Flüssigkeit des Quecksilbers bei gewöhnlicher Temperatur und die leichte Verbindung mit edlen Metallen, sowie seine Flüchtigkeit unter der Glühhitze machen es leicht, dies Metall von anderen zu unterscheiden und zu trennen. Man bedient sich zu seinem Nachweis entweder derselben Methode, wie sie im vorigen Paragraphen für Kupfer und Blei vorgeschrieben ist, nur mit dem Unterschiede, dass bei der Elektrolyse ein kleines Goldblättchen als negative Elektrode in die Zelle gesenkt wird, oder scheidet nach Ludwig das Quecksilber durch Schütteln mit Zinkstaub ab. Hat sich bei An-

wendung ersterer Methode nach 6—24stündiger Einwirkung des Stromes das Goldblättchen heller gefärbt, so ist die Anwesenheit des Quecksilbers wahrscheinlich. Man unterbricht nach der angegebenen Zeit den Strom, wäscht das Goldblättchen mit einigen Tropfen Wasser, bringt es mit seinem zusammengebogenen Zuleitungsdraht in ein enges Glasrohr, welches am anderen Ende in ein Capillarrohr ausgezogen ist, und schmilzt dann das weitere Ende der Röhre zu, so jedoch, dass das Goldblättchen selbst in diesem zugeschmolzenen Theil der Röhre sich befindet, und hat sich nach etwa 5 Minuten ein Beschlag im kälteren Theile der Röhre gebildet, so treibt man diesen in das Capillarrohr, erhitzt nochmals das Gold und treibt das etwa noch entwickelte Quecksilber gleichfalls in das Capillarrohr. Dann schmilzt man den Theil der Röhre, welcher das Goldblättchen enthält, ab, indem man die Röhre in der Flamme etwas auszieht, lässt erkalten, schneidet die ausgezogene Spitze ab und bringt ein wenig Jod in das Röhrchen, schmilzt dann wieder zu und treibt durch Erwärmen das Jod zu dem Beschlag im Innern des Röhrchen, den man für Quecksilber hält. Erscheinen dabei ausser braunen auch noch rothe und gelbe Ringe (Jodquecksilber), welche durch Erhitzen leicht weggetrieben, sich an anderen Orten des Röhrchen wieder niederschlagen, so zeigt dies mit Sicherheit das Vorhandensein von Quecksilber an, und diese Reaction ist so fein, dass sie selbst eintreten kann, wenn der Quecksilberbeschlag im Röhrchen nicht deutlich sichtbar ist.*) Das viel einfachere Verfahren von E. Ludwig mehrfach modificirt vergl. Paschkis, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 495.

Säuren.

Schwefelwasserstoff H_2S.

50. Als ziemlich constanter Bestandtheil findet sich Schwefelwasserstoff in dem Gemisch der Gase im Dickdarm, oft auch im übrigen Darme, er bildet sich bei der Fäulniss in Leichentheilen, sowie in brandigen Abscessen, Pyopneumothorax, faulendem Eiter auf Geschwüren. In Verbindung mit Alkalimetallen erhält man ihn beim Kochen vieler schwefelhaltiger, organischer Substanzen mit

*) Im Wesentlichen nach Schneider. Ueber das chemische und elektrolytische Verhalten des Quecksilbers u. s. w. Sitzungsbericht d. Wiener Akad. d. Wiss. Bd. 40. S. 239. 1860.; vergl. ferner E. Ludwig und A. Mayer, Wien. med. Jahrbücher 1877 und 1880.

Alkalilauge oder beim Glühen von schwefelsauren Salzen mit Kohle bei gehindertem Luftzutritt.

Schwefelwasserstoff ist ein farbloses, wie faule Eier riechendes, vom Wasser reichlich absorbirbares Gas; es färbt feuchtes, blaues Lackmuspapier roth (an der Luft getrocknet wird dies wieder blau), brennt mit bläulicher Flamme und wird durch Chlor, Ozon u. s. w. zu Wasser resp. Salzsäure oxydirt unter Abscheidung oder gleichzeitiger Oxydation des Schwefels. Mit Alkalien verbindet sich Schwefelwasserstoff zu in Wasser löslichen, an der Luft sehr veränderlichen Schwefelmetallen; mit den schweren Metalloxyden giebt er meist stark gefärbte Niederschläge. Blei- und Silberlösungen werden durch Schwefelwasserstoff schwarz gefällt und das niederfallende Schwefelsilber oder Schwefelblei ist in verdünnter Säure unlöslich.

Zum Nachweise des Schwefelwasserstoffs dienen ausser dem charakteristischen Geruche noch 'folgende Proben: 1) Ein Schwefelwasserstoff enthaltendes Gasgemenge färbt einen mit einer Lösung von essigsaurem Blei und etwas Ammoniak befeuchteten Papierstreifen schwarz; 2) einen mit einer Lösung von Nitroprussidnatrium und einem Tropfen verdünnter Natronlauge befeuchteten Papierstreifen purpurroth.

Die geringsten Spuren von Schwefelwasserstoff findet man in Gasgemengen, wenn man dieselben durch eine mit überschüssigem Aetznatron versetzte Bleizuckerlösung streichen lässt.

In Flüssigkeiten weist man den an Alkalien gebundenen Schwefelwasserstoff auf die gleiche Weise nach wie in Gasgemengen, indem man jene Lösungen selbst statt der getränkten Papierstreifen in die Flüssigkeiten bringt.

Freier Schwefelwasserstoff färbt Nitroprussidnatriumlösung nicht, aber sofort nach Zusatz von Alkali.

Chlorwasserstoff HCl.

51. Chlor findet sich gebunden an Kalium, Natrium in fast allen Theilen des thierischen und menschlichen Körpers; nur im Magensafte ist bei Menschen und Säugethieren freie Salzsäure oder an organische Stoffe gebundene nachgewiesen. Besonders reichlich sind Chlormetalle, abgesehen vom Magensafte im Blutserum, in Transsudaten und im Harne enthalten.

Der Chlorwasserstoff ist ein farbloses, mit Wasserdampf oder

mit Ammoniakgas weisse Nebel bildendes Gas. Eine mehr oder weniger gesättigte Lösung dieses Gases in Wasser ist die bekannte Salzsäure. Durch stark oxydirende Substanzen, z. B. durch Manganhyperoxyd, wird der Chlorwasserstoff in Chlor und Wasser umgewandelt. Die Verbindungen mit Alkalien sind leicht löslich in Wasser, krystallisiren im regulären Systeme, meist als Würfel, in unreinen Lösungen auch in Octaëder-, Pyramidenwürfel- und Tetraëderform. Chlorkalium sowie Chlornatrium schmelzen in der Weissglühhitze und verflüchtigen sich dann, das Chlorammonium sublimirt bereits unter der Rothglühhitze, ist aber bei 100° nicht bemerkbar flüchtig. Chlorkalium und Chlornatrium sind sehr schwer löslich in absolutem Alkohol, leichter in Weingeist, unlöslich in Aether. Chlorammonium ist leichter löslich in Alkohol, auch etwas löslich in Aether. Durch freie Schwefelsäure werden diese Salze in freien Chlorwasserstoff und schwefelsaure Salze umgewandelt, durch Abdampfen und Erhitzen mit viel Salpetersäure in salpetersaure Salze.

Die übrigen Verbindungen mit Basen sind fast alle leicht löslich in Wasser; Chlorblei ist schwer, Chlorsilber und Quecksilberchlorür gar nicht löslich in Wasser. Eine saure oder neutrale wässerige Lösung, welche Chlorwasserstoff enthält, wird durch salpetersaures Silberoxyd gefällt; der weisse, besonders beim Erwärmen sich käsig absetzende Niederschlag, Chlorsilber, ist unlöslich in Salpetersäure, färbt sich im Lichte grauviolett, ist leicht löslich in Ammoniak.

Chlorcalcium und Chlormagnesium sind sehr hygroskopisch, leicht löslich in Wasser oder Alkohol, nicht in Aether; beim heftigen Erhitzen verliert das letztere Chlorwasserstoff und die wässerige Lösung des Rückstandes reagirt alkalisch.

Der Nachweis der Chlorwasserstoffsäure beruht auf der Unveränderlichkeit ihrer Verbindungen mit Kali oder Natron in der Rothglühhitze und dem angegebenen Verhalten der Lösungen gegen salpetersaures Silberoxyd und Salpetersäure, Schwärzung des Niederschlags durch das Licht, Löslichkeit desselben in Aetzammoniak.

Fluorwasserstoff HFl.

52. Fluor findet sich in meist zweifelhaften Spuren im Blute, der Milch, im Harne; gut nachweisbar in den Knochen und Zahnsubstanzen. Man nimmt an, dass es hier stets an Calcium gebunden sei.

Um Flüssigkeiten oder Gewebe auf Fluor zu prüfen, trocknet man sie, verascht den Rückstand, extrahirt die Asche, wenn sie viel lösliche Salze enthält, mit Wasser, ohne jedoch viel auszuwaschen. Den Rückstand bringt man dann in einen Platintiegel, giesst einen Ueberschuss concentrirter Schwefelsäure darauf und bedeckt den Tiegel sofort mit einem in folgender Weise vorbereiteten Uhrglase. Man überzieht ein solches Uhrglas an der convexen Seite mit geschmolzenem Wachs in dünner Schicht, und gravirt in diesen Ueberzug mittelst eines spitzen Hölzchens einen Buchstaben in der Weise, dass in dieser Gravirung die spiegelnde Glasfläche entblösst ist. Man bedeckt mit diesem Glase, die convexe Seite nach unten, den Tiegel, doch darf es die Flüssigkeit im Tiegel nicht berühren, bringt oben in seine Höhlung einige Tropfen Wasser und stellt nun den Tiegel auf einen auf etwa 40° erwärmten Stein. Indem man zuweilen die Masse im Tiegel mit einem Platindrahte umrührt, lässt man 24 Stunden stehen, entfernt dann durch Schmelzen des Wachses und Waschen mit Steinöl den Wachsüberzug, trocknet das Glas und beobachtet, ob der in den Wachsüberzug gravirte Buchstabe auf der Glasfläche aufgeätzt erscheint, und wenn er nicht sichtbar ist, ob er beim Anhauchen des Glases zum Vorschein kommt. Fluormetalle werden durch concentrirte Schwefelsäure unter Freiwerden von Fluorwasserstoff zerlegt, der gasförmige Fluorwasserstoff greift die Glasfläche an, indem er Fluorsilicium, Fluormetall und Wasser bildet; auf diesen Processen beruht die Erkennung der Fluorverbindungen.

Schwefelsäure SH_2O_4.

53. Die Schwefelsäure, in sehr geringer Menge im Blute und den Gewebsflüssigkeiten, mit Ausnahme der Milch auch in allen Secreten enthalten, findet sich nur im Harne etwas reichlicher; selbst Sedimente von schwefelsaurem Kalke sind hier beobachtet. Sie ist im Trinkwasser und fast allen Nahrungsmitteln enthalten und bildet sich ausserdem im Thierkörper als Oxydationsproduct der Albuminstoffe.

Die reine Schwefelsäure stellt eine erst weit über 100° flüchtige, mit Wasser, Alkohol oder Aether in jedem Verhältnisse mischbare, farblose Flüssigkeit dar. Sie ist bei gew. Temperatur die stärkste Säure und treibt alle leichter flüchtigen Säuren aus ihren Verbindungen beim Erwärmen aus.

Die neutralen schwefelsauren Salze sind in Alkohol und Aether

unlöslich; beim Glühen mit Kohle werden sie zu Schwefelmetallen reducirt; beim Glühen mit Soda und Kohle geben sie Schwefelnatrium, welches in Wasser gelöst metallisches Silber schwarz färbt (Schwefelsilber) und beim Zusatz von Salzsäure Schwefelwasserstoff entwickelt.

Die Lösungen schwefelsaurer Salze werden gefällt:

1) Durch Chlorcalcium in concentrirter Lösung. Der krystallinische Niederschlag, schwefelsaurer Kalk, bildet sich, wenn die Lösung nicht sehr concentrirt ist, allmälig, ist in viel Wasser löslich, leichter in Salzlösungen, unlöslich in Weingeist.

2) Durch Chlorbarium oder salpetersauren Baryt. Der sehr feinkörnige, leicht durch's Filter gehende Niederschlag, schwefelsaurer Baryt, ist unlöslich in Wasser, kaum löslich in Säuren. In sehr verdünnten Lösungen entsteht er erst nach einigen Secunden. Durch Erwärmen und Zusatz von Chlorammonium wird er besser filtrirbar*).

3) Durch essigsaures Bleioxyd. Der weisse feinkörnige Niederschlag, schwefelsaures Bleioxyd, ist sehr schwer löslich in Wasser oder verdünnten Säuren.

Man benutzt zum Nachweis der Schwefelsäure vor Allem das Verhalten gegen Barytsalze, da dies keine Verwechselung zulässt.

Unterschweflige Säure $S_2H_2O_3$.

Von Schmiedeberg**) und Meissner***) als fast constanter Bestandtheil des Katzenharns und sehr häufiger Bestandtheil des Hundeharns nachgewiesen. Ihr Auftreten in diesen Harnen steht wahrscheinlich in Beziehung zum Cystin, welches im Hundeharne nicht selten ist.

Die unterschweflige Säure ist im freien Zustande nicht bekannt, in Verbindung mit Natrium erhält man sie am Einfachsten durch Kochen einer Lösung von schwefligsaurem Natron mit gepulvertem Schwefel. Ihre Alkali- und alkalischen Erdsalze sind ebenso wie das Magnesium und Zinksalz in Wasser löslich, am Wenigsten das Barytsalz, es entsteht daher ein Niederschlag von unterschwefligsaurem Baryt, wenn man eine nicht allzuverdünnte Lösung des Alkalisalzes mit Chlorbarium versetzt. Das Silbersalz ist unlöslich in Wasser, aber leicht löslich in überschüssigem unterschwefligsauren Alkali. Das unterschwefligsaure Silber schwärzt sich bald durch Bildung von Schwefelsilber. Das Kalksowie das Strontiansalz zersetzen sich beim Kochen der Lösung unter Abscheidung

---

*) Stark mit Salzsäure oder Salpetersäure versetzte Lösungen geben mit Chlorbarium einen weissen, krystallinischen, in Wasser leicht löslichen Niederschlag.

**) Schmiedeberg, Arch. d. Heilkunde 1867. S. 422.

***) Meissner, Zeitschr. f. rat. Med. 1868. Bd. 31. S. 322. Anm.

von Schwefel. Versetzt man die Lösung eines unterschwefligsauren Salzes mit Salzsäure, so trübt sich die Flüssigkeit bald durch Abscheidung von amorphem Schwefel, in der Lösung ist dann schweflige Säure.

Schmiedeberg stellte unterschwefligsauren Baryt aus Hunde- oder Katzenharn dar, indem er zunächst den Harn mit Kalkmilch und salpetersaurem Kalk fällte, dann durch Kohlensäure im Filtrate den Kalk entfernte, mit Essigsäure oder Salpetersäure neutralisirte und mit Bleiessig fällte. Den mit Wasser ausgewaschenen Bleiniederschlag zerlegte er mit kohlensaurem Ammoniak, entfärbte mit Thierkohle, erwärmte mit Aetzbaryt, so lange Ammoniak ausgetrieben wurde, fällte den überschüssigen Baryt mit Kohlensäure und dampfte das Filtrat zur Krystallisation ein.

Meissner behandelte den Harn sogleich mit Barytwasser im Ueberschusse, filtrirte, dampfte ein, fällte mit Weingeist. Der dicke weisse Niederschlag löste sich grösstentheils in kochendem Wasser, und beim Abdampfen und nachherigen Erkalten der Lösung schied sich der unterschwefligsaure Baryt in schönen farblosen Krystallen ab.

Gegen diese Darstellungsmethode ist nur einzuwenden, dass Cystin, welches jedenfalls oft in diesen Harnen vorkommt, bei dem längeren Erwärmen mit Barytwasser Schwefelbarium und durch Einwirkung der Luft unterschwefligsauren Baryt liefern kann.

Den einfachsten Nachweis der unterschwefligen Säure im Harne erhält man durch Zusatz von starker Salzsäure, der Harn wird bei ihrer Anwesenheit bald milchigtrübe und setzt im Verlaufe mehrerer Tage Schwefel mit anderen Substanzen (Kynurensäure etc.) ab. Der Schwefel kann dann mit frisch rectificirtem Schwefelkohlenstoff gelöst und durch Verdunsten der Lösung rein erhalten werden.

Phosphorsäure PH_3O_4.

54. Nächst dem Calcium ist die Phosphorsäure im Körper der Wirbelthiere am Reichlichsten von allen anorganischen Substanzen enthalten und zwar besonders in den Knochen und Zähnen, hier nur an Calcium und Magnesium gebunden; sie findet sich mit diesen Metallen und mit Alkalimetallen verbunden in geringer Menge in allen thierischen Flüssigkeiten, besonders auch im Harne, ist ein gewöhnlicher Bestandtheil der Harnsteine und anderer Concremente und bildet sich bei der Zerlegung des Nucleins, Lecithins und der Glycerinphosphorsäure.

Sie ist eine farblose Säure, die bei gew. Temperatur leicht aus ihren neutralen Salzen einen Theil des Metalls an andere Säuren abtritt und saure Salze bildet, in der Hitze dagegen die meisten Säuren aus ihren Salzverbindungen austreibt. Beim Erhitzen geht sie unter Wasserverlust in Pyro- und endlich in Metaphosphorsäure über, welche durch Glühen mit kohlensaurem Natron wieder in gewöhnliche Phosphorsäure umgesetzt werden. Beim lebhaften Erhitzen

der freien Säure in offener Platinschale verdampft sie, ihre neutralen Alkalisalze werden beim Erhitzen mit Kohle nicht zerlegt, die Verbindungen mit schweren Metallen dagegen werden durch Glühen mit organischen Stoffen zersetzt.

Die Phosphorsäure ist dreibasisch, giebt also mit Metallen drei Reihen von Verbindungen, ein neutrales und zwei saure Salze mit jedem Alkali und viele Doppelsalze. Die Verbindungen mit Alkalien sind löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol; die neutralen Verbindungen mit alkalischen Erden sind alle unlöslich in Wasser, etwas löslich in kohlensäurehaltigem Wasser, unlöslich in Ammoniak, leicht löslich in Mineralsäuren, auch löslich in Essigsäure.

Die nur zwei Atome feuerbeständige Basis enthaltenden Salze werden beim Glühen in pyrophosphorsaure Salze umgewandelt.

Wässerige Lösungen, welche Phosphorsäure enthalten, werden gefällt:

1) Durch Chlorbarium oder Chlorcalcium und Ammoniak; der weisse, flockige Niederschlag ist unlöslich in Ammoniak, löslich in Essigsäure und in Mineralsäuren.

2) Durch salpetersaures Silberoxyd in Lösungen neutraler phosphorsaurer Salze. Der gelbe Niederschlag ist in Säuren oder Ammoniak leicht löslich.

3) Durch ammoniakalische Magnesialösung; in nicht zu verdünnten Lösungen entsteht der weisse Niederschlag als feinkörniges Pulver sofort, in sehr verdünnten allmälig sich als Krystalle an den Glaswandungen abscheidend. Der Niederschlag, phosphorsaure Magnesia-Ammoniak, ist leicht löslich in Säuren, unlöslich in Ammoniak.

4) Durch wenig Eisenchlorid in nur Essigsäure als freie Säure enthaltender Lösung als flockiger gelblichweisser Niederschlag, phosphorsaures Eisenoxyd. (Eigenschaften des Niederschlags siehe § 45. B. 5. Fällung.)

5) Durch Lösung von molybdänsaurem Ammoniak in Salpetersäure. Der gelbe Niederschlag entsteht bei gewöhnlicher Temperatur langsam, beim Erwärmen schneller und überhaupt nur dann, wenn die Lösung weniger Phosphorsäure als zu ihrer Ausfällung erforderliches molybdänsaures Ammoniak enthält und keine Weinsäure zugegen ist; er ist unlöslich allein in der Lösung des Fällungsmittels selbst. Gegenwart von Salzsäure beeinträchtigt diese Fällung sehr.

Zum Nachweis der Phosphorsäure in Concrementen oder Aschen bedient man sich entweder der Fällung 5 oben, oder man fällt sie,

wenn sie an Alkali gebunden ist, durch Magnesialösung. Die Fällung 4 dient besonders zur Trennung der Phosphorsäure von Kalk und Magnesia, die übrigen Fällungen, die oben angeführt sind, benutzt man dann nur zur Bestätigung oder Abscheidung der Phosphorsäure aus Lösungen.

Pyrophosphorsäure $P_2H_4O_7$ bildet sich aus der gewöhnlichen Phosphorsäure, wenn entweder das Hydrat derselben oder ihre Salze, die nur zwei Atome feuerbeständiger Basen enthalten, bis zum Entweichen des einen Atoms flüchtiger Basis oder basischen Wassers erhitzt werden. Sie bildet sich z. B. bei Verkohlung und Veraschung des Gehirns und anderer lecithinreicher Substanzen.

Die pyrophosphorsauren Alkalien sind in Wasser löslich, die Salze der alkalischen Erden nur in Lösungen anderer Salze. Die Lösungen pyrophosphorsaurer Alkalien geben:

1) mit salpetersaurem Silberoxyd einen weissen, in Salpetersäure sowie Ammoniak löslichen Niederschlag;

2) mit schwefelsaurer Magnesia einen weissen, flockigen Niederschlag, der sowohl in überschüssiger schwefelsaurer Magnesia als in überschüssigem phosphorsauren Alkali sich löst. Durch Ammoniak wird diese Lösung nicht gefällt;

3) mit Luteokobaltchlorid (Kobaltihexaminchlorid) bei mässiger Verdünnung sogleich, bei starker Verdünnung erst beim Umschütteln einen blassröthlichgelben krystallinischen Niederschlag, während die Lösungen der Alkalisalze der gewöhnlichen Phosphorsäure und der Metaphosphorsäure erst nach einigen Stunden Niederschläge geben, die auch durch ihr Ansehen von dem der Phosphorsäure leicht zu unterscheiden sind.

Durch Kochen mit Säuren oder Glühen mit Alkalien oder alkalischen Erden geht die Pyrophosphorsäure in gewöhnliche Phosphorsäure über.

Kieselsäure SiO_2.

55. Nur im Harne besonders der Pflanzenfresser ist bis jetzt lösliche Kieselsäure mit Sicherheit nachgewiesen, im menschlichen Harne finden sich nur ganz geringe Spuren davon. Bei den Vögeln ist unlösliche Kieselsäure reichlich in den Federn, bei Säugethieren in geringer Menge in den Haaren nachgewiesen.

Die wasserfreie Kieselsäure stellt ein feuerbeständiges, weisses, in gewöhnlichem Feuer nicht schmelzbares Pulver dar, das in Wasser oder Säuren nach dem Trocknen in der Hitze unlöslich ist. Wird die lösliche Säure aus ihren alkalischen Verbindungen durch Säuren abgeschieden, so bleibt sie zunächst gelöst, bildet beim Concentriren der sauren Lösung eine Gallerte mit dem noch rückständigen Wasser und bleibt beim Eintrocknen und Erhitzen des Rückstandes als weisse pulverige, in Wasser und in Säuren unlösliche, in kochender Alkali-

lauge lösliche Masse zurück. Fluorwasserstoff löst die Kieselsäure zu Fluorsiliciumgas, welches sich mit Wasser in Kieselfluorwasserstoff und gallertige Kieselsäure zerlegt.

Zum Nachweis der Kieselsäure in Aschen (die in Platingefässen angefertigt sein müssen) fügt man zu denselben verdünnte Salzsäure in genügendem Ueberschusse, verdunstet zur Trockne, erhitzt den Rückstand einige Minuten auf dem Sandbade über 100°, so lange saure Dämpfe entweichen, lässt erkalten, übergiesst mit verdünnter Salzsäure und erwärmt; ist Kieselsäure vorhanden, so bleibt sie als feines weisses Pulver zurück, welches mit überschüssiger wässriger Flusssäure in einer Platinschale verdampft, sich ganz verflüchtigt.

Ammoniak NH_3.

56. In Verbindungen mit Säuren findet sich Ammoniak im Magen- und Darm-Inhalte, besonders im Dickdarme oft reichlich, im Blute und Harne in geringen Spuren normal, bei Blasen- oder Nierenkrankheiten im Harne oft im freien Zustande sehr reichlich. Bei der Fäulniss des Harns, Blutes, Eiter, brandiger Theile und von Leichentheilen bildet es sich reichlich, ebenso durch Zersetzung von Harnstoff, Leim, Albuminstoffen u. s. w. beim Kochen mit starken Säuren oder Alkalien.

Das freie Ammoniak ist ein farbloses Gas von eigenthümlichem, stechendem Geruche, welches bei gewöhnlicher Temperatur sehr reichlich vom Wasser absorbirt wird und beim Kochen der wässerigen Flüssigkeiten oder Stehen an der Luft nur langsam vollkommen entweicht. Das Ammoniak verbindet sich direct mit Säuren zu Salzen, als Gas giebt es mit dem Dampfe von Säuren, wie Salzsäure, Salpetersäure, Essigsäure, weisse Nebel, indem es sich mit der Säure zu weniger flüchtigem Salz verbindet. Es färbt feuchtes rothes Lackmuspapier blau, Curcumapapier braun, Blauholztinctur violettroth, Cochenilletinctur carminroth. Aus seinen Verbindungen wird es durch Kali- oder Natronlauge oder Kalkmilch in Freiheit gesetzt und kann durch den Geruch des besonders beim Erwärmen sich entwickelnden Gases, durch die Bildung der Nebel mit Salzsäure oder besser Essigsäure (man bringt einen mit Essigsäure befeuchteten Glasstab in die Luft über der mit Kalkmilch versetzten Flüssigkeit), sowie durch die Veränderung der Farbe von feuchtem rothen Lackmus- oder Blauholzpapier nachgewiesen werden.

Die Verbindungen des Ammoniaks mit Säuren gleichen den entsprechenden Verbindungen von Kali und geben auf die gleiche Weise wie diese Niederschläge mit Platinchlorid oder Weinsäure. Das durch Fällung der Ammoniaklösungen mit Platinchlorid erhaltene hellgelbe, feinkrystallinische Ammoniumplatinchlorid ist in Wasser schwer, in Alkohol und Aether fast gar nicht löslich; beim Erhitzen zerlegt es sich unter Verflüchtigung von Salzsäure und Chlorammonium und Hinterlassung von metallischem Platin.

Zur Entdeckung von freiem Ammoniak in Flüssigkeiten ist es zweckmässig, die zu prüfende Flüssigkeit in ein Becherglas zu bringen, ohne dessen Rand damit zu benetzen; man bedeckt das Becherglas mit einer reinen Glasplatte, an deren unterer Seite ein Stück feuchtes, rothes Lackmuspapier angelegt ist. Enthält die Flüssigkeit nur Spuren von Ammoniak, so wird das Papier nach einiger Zeit blau gefärbt; in gleicher Weise kann man mit Blauholzpapier prüfen. Enthalten die zu untersuchenden Flüssigkeiten stickstoffhaltige organische Stoffe, die leicht zersetzlich sind, so darf man die Flüssigkeiten nicht zu lange vor der Prüfung stehen lassen, da man sonst befürchten muss, dass eine Zerlegung unter Ammoniakentwickelung eintritt.

Flüssigkeiten, die nur Spuren von freiem Ammoniak enthalten, geben mit einigen Tropfen Quecksilberchlorid versetzt eine weisse Trübung oder Niederschlag von Quecksilberchloridamid.

Auf Ammoniakverbindungen prüft man die Flüssigkeiten auf gleiche Weise, nachdem man einen genügenden Ueberschuss von Kalkmilch hinzugefügt hat, auch bei dieser Probe darf man nur einige Stunden lang stehen lassen, und darf durchaus nicht erwärmen, wenn stickstoffhaltige organische Körper sich in der Flüssigkeit befinden.

Statt dieser Prüfungsmethoden kann man sich auch des Nessler-schen Reagens (vergl. Reagentien § 34) bedienen, indem man durch einen Aspirator Luft in drei aufeinander folgenden, miteinander verbundenen Kugelapparaten zuerst durch Schwefelsäure, dann durch die zu untersuchende Flüssigkeit, dann durch das Nessler'sche Reagens hindurchsaugt; die durch Schwefelsäure von Ammoniak völlig befreite Luft entzieht der zu prüfenden Flüssigkeit allmälig das freie Ammoniak vollständig und bewirkt beim Durchstreichen durch die alkalische Jodquecksilber-Jodkaliumlösung einen braunen Niederschlag oder mindestens eine gelbe Färbung.

Ein gleichfalls höchst empfindliches Reagens ist eine Lösung

von Quecksilberchlorid und etwas Aetzkali oder kohlensaures Kali; vor einem Ueberschusse des Alkali muss man sich in Acht nehmen, da sonst Quecksilberoxyd abgeschieden wird.*)

Auch Lösung von Phosphormolybdänsäure kann man in gleicher Weise anwenden, ist Ammoniak zugegen, so bildet sich ein feinkörniger gelber Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak.

---

2. Organische Stoffe oder Kohlenstoffverbindungen.

57. Die sogenannten organischen Körper oder Kohlenstoffverbindungen sind beim anhaltenden Erhitzen und Zutritt der atmosphärischen Luft entweder unzersetzt oder unter Zersetzung flüchtig. Die letzteren, d. h. die in der Hitze sich zerlegenden organischen Stoffe geben bei dem Erhitzen fast alle zunächst Kohle, welche dann beim weiteren Glühen mit dem Sauerstoff der Luft zu Kohlensäure verbrennt. Beim Erhitzen mit leicht oxydirenden Körpern, als Kupferoxyd, Salpeter, chlorsaurem Kali, wird der ganze Kohlenstoffgehalt zu Kohlensäure, der ganze Wasserstoffgehalt zu Wasser oxydirt. Erhitzt man dagegen organische Stoffe bei Ausschluss von Sauerstoff oder unzureichender Menge desselben oder der oxydirenden Substanzen, so treten ausser Kohlensäure und Wasser noch andere meist sehr mannigfaltige flüchtige Zersetzungsproducte auf und Kohle bleibt zurück.

Alle hierher gehörigen Körper mit Ausnahme der gasförmigen Kohlensäure und der Schwefelcyanverbindungen enthalten Wasserstoff, alle mit Ausnahme der Schwefelcyanverbindungen auch Sauerstoff. Viele Kohlenstoffverbindungen enthalten ausserdem Stickstoff, welcher beim Erhitzen als Ammoniak oder Ammoniakbase entweicht. Nur wenige der im Folgenden abgehandelten Stoffe enthalten Schwefel und noch weniger Phosphor (und zwar letzteren stets in der Verbindung der Phosphorsäure).

Unterscheidung organischer Stoffe von anorganischen.

58. Die organischen Stoffe unterscheiden sich, wie oben angegeben ist, durch ihr Verhalten in der Hitze von den meisten an-

---

*) Bohlig, Ann. Chem. Pharm. Bd. 125. S. 23.

organischen Körpern. Zu ihrer Erkennung erhitzt man daher ein wenig der zu prüfenden Substanz auf Platinblech zuerst sehr vorsichtig, allmälig bis zum Glühen. Die meisten organischen Stoffe, die hierher gehören, werden bei dieser Erhitzung unter Hinterlassung von Kohle zerlegt, auch diese verbrennt beim weiteren Glühen und man erkennt dann, ob ausser der organischen Substanz sich noch schmelzbare oder unschmelzbare anorganische Stoffe in der Probe befanden. Sind die Stoffe ohne Hinterlassung von Kohle flüchtig, so können sie aus Ammoniaksalzen, organischen flüchtigen Säuren oder Oxalsäure bestehen.

Die § 56 angegebenen Reactionen des Ammoniak machen es leicht, die Salze desselben von flüchtigen organischen Körpern zu unterscheiden, auf flüchtige organische Säuren und Oxalsäure prüft man nach den bei diesen Körpern angegebenen Vorschriften.

Zur weiteren Specialisirung ist es erforderlich, einen organischen Stoff, über dessen Zusammensetzung man keine hinreichende Sicherheit besitzt, zu untersuchen, ob er Stickstoff, Schwefel, Phosphor enthält.

Untersuchung organischer Körper auf Stickstoffgehalt.

59. Körper, welche viel Stickstoff enthalten, entwickeln beim Erhitzen den Geruch nach verbranntem Horn oder Leim und die sich entwickelnden Gase geben die Reaction des freien Ammoniaks. Zur sicheren Prüfung schlägt man folgende Wege ein:

1) Man vermischt die zu untersuchende Substanz mit vorher geglühtem Natronkalk im Ueberschusse und erhitzt dann das Gemenge im Glaskölbchen. Ist die Substanz stickstoffhaltig, so entweicht Ammoniak gasförmig und wird an seinem Geruche, Verhalten gegen feuchtes, rothes Lackmuspapier, gegen Essigsäure etc. (vergl. § 56) erkannt.

2) Sehr scharfe Erkennung des Stickstoffgehaltes in organischen Körpern gestattet Lasseigne's Methode. Man bringt die trockne Substanz in ein getrocknetes Probirröhrchen, wirft ein Stückchen metallisches Natrium dazu und erhitzt nun allmälig bis zum Glühen. Beim Glühen des Natrium mit Kohlenstoff und Stickstoff enthaltenden Substanzen bildet sich Cyannatrium. Lässt man jetzt erkalten, fügt vorsichtig aus der Spritzflasche Wasser hinzu, schüttelt gut um, filtrirt und fügt zum klaren Filtrate etwas Lösung von gelbgewordenem Eisenvitriol, so bildet sich Ferrocyannatrium, und macht man dann

die Flüssigkeit mit Salzsäure sauer, so bildet sich blaue Färbung oder blauer Niederschlag (Berliner Blau), wenn die untersuchte Substanz stickstoffhaltig war.

Untersuchung der organischen Stoffe auf Schwefelgehalt.

60. Einige schwefelhaltige organische Substanzen lassen ihren Schwefel beim Kochen mit concentrirter Kalilauge an das Alkalimetall treten, andere geben bei dieser Behandlung nur einen Theil ihres Schwefelgehaltes ab, noch andere bilden hierbei gar kein Schwefelalkalimetall.

Zur Ausführung dieser Untersuchung trägt man die zu prüfende Substanz in überschüssige Kalilauge in einem Porzellantiegel ein, erhitzt zum Kochen, lässt die Flüssigkeit kochend sich concentriren, dann erkalten, vermischt dann mit etwas Wasser und untersucht die so erhaltene Flüssigkeit nach § 50 auf Schwefelwasserstoff.

In allen Fällen lässt sich der Schwefelgehalt organischer Substanzen, die frei von Schwefelsäure und nicht flüchtig sind, auf folgendem Wege ermitteln.

Man mischt die Substanz mit einem etwa gleichen Theile verwitterten kohlensauren Natron und etwa halb so viel salpetersauren Natron in einer Reibschale; erhitzt dann in einem Platin- oder Silbertiegel Aetzkali gemischt mit etwas salpetersaurem Natron zum Schmelzen, trägt allmälig das obige Gemenge in die schmelzende Masse ein und erhitzt dann noch so lange, bis das Ganze eine helle Färbung angenommen hat und keine Kohle mehr zu bemerken ist. Man lässt nun erkalten, bringt die Masse mit Wasser, zuletzt mit etwas Salzsäure in ein Becherglas, übersättigt nach und nach mit Salzsäure (dampft dann, wenn man im Porzellantiegel geschmolzen hatte, zur Trockne in einer Porzellanschale ab, löst den festen Rückstand in Wasser und ein wenig Salzsäure, filtrirt) und fügt zu der Flüssigkeit einige Tropfen Chlorbariumlösung. Entsteht eine Trübung oder ein feiner in Wasser unlöslicher Niederschlag, so war die untersuchte Substanz schwefelhaltig.

Es ist selbstverständlich, dass das zu dieser Untersuchung benutzte Alkali schwefelsäurefrei sein muss (vergl. § 29).

Zum Nachweis des Schwefelgehaltes in organischen Stoffen können ausser der angegebenen noch manche andere benutzt werden, die sämmtlich zugleich zur quantitativen Bestimmung dienen.

Die Verbrennung der fraglichen Substanz in einem Schiffchen im 2 Fuss langen Glasrohre nach Geuther*) zwischen zwei Lagen einer Mischung von 10 Thl. trocknen kohlensauren Natron und 1 Thl. Salpeter zuerst im Luft-, dann im Sauerstoffstrome ist leicht ausführbar und genau. Ausserdem sind besonders zu empfehlen die Methoden von Carius**), die auch Külz***) besonders empfiehlt, und von Otto†), doch würde es hier zu weit führen, dieselben zu beschreiben.

Schoenn††) empfiehlt zum Nachweis von Schwefel in organischen Verbindungen eine Probe der gepulverten Substanz in ein dünnwandiges unten geschlossenes Glasröhrchen zu bringen, ein kleines Stück Kalium hinzuzufügen, so dass dasselbe von der organischen Substanz umhüllt wird, dann zum Glühen zu erhitzen. Nach dem Erkalten wird die Masse entweder in angesäuertes Wasser gebracht, wobei sich Schwefelwasserstoff entwickelt, oder in eine Nitroprussidnatriumlösung, die durch das Schwefelmetall violett gefärbt wird.

Untersuchung auf Phosphorgehalt in organischen Stoffen.

61. In sämmtlichen phosphorhaltigen Stoffen, die hier in Betracht kommen, kann der Phosphor nach folgender Methode aufgesucht und auch bestimmt werden.

Die Substanz wird mit einer Mischung von trocknem kohlensauren und salpetersauren Natron gemischt in einer Porzellan- oder besser Platinschale bis zum Verschwinden der Kohle vorsichtig geglüht, die Masse nach dem Erkalten in Wasser gelöst, im bedeckten Becherglase mit Salpetersäure stark übersättigt, dann die Lösung etwas eingedampft mit salpetersaurer Lösung von molybdänsaurem Ammoniak (vergl. § 33) bei etwa 40° gefällt, nach 12 Stunden der Niederschlag abfiltrirt, in verdünntem Ammoniak gelöst und diese Lösung mit einer klaren Mischung von schwefelsaurer Magnesia, Chlorammonium und überschüssigem Ammoniak gefällt. Diese Methode ist zur quantitativen Bestimmung des Phosphorgehaltes sehr geeignet; es sind hierfür hinsichtlich der Behandlung der Nieder-

*) Zeitschr. f. Chem. 1865. S. 347.
**) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 3. S. 697.
***) Arch. f. Anat. und Physiol. 1872. S. 98.
†) Ann. Chem. Pharm. Bd. 145. S. 25.
††) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 8. S. 52.

schläge die Vorschriften, welche für die Bestimmung der Phosphorsäure in Aschen unten gegeben sind, in § 209 nachzusehen.

Schoenn*) empfiehlt zum Nachweis von Phosphor die gepulverte Substanz mit ihrem halben Volumen Magnesiumpulver zu mengen und zu glühen. Der sich verflüchtigende Phosphor leuchtet, und bringt man die geglühte Masse in Wasser, so tritt der zwiebelähnliche Geruch nach Phosphorwasserstoff auf. Eine Methode zum Nachweis von Stickstoff, Schwefel, Chlor, Brom, Jod in organischen Stoffen durch Glühen mit Kalium oder Natrium ist von Spica (Gaz. chim. italian. IX. 1879. p. 574) beschrieben.

Es würde den Umfang dieses Handbuchs bedeutend vermehren, wenn eine detaillirte Beschreibung der Methoden zur quantitativen Bestimmung des C, H, N, S und P-Gehaltes der organischen Stoffe durch die sog. Elementaranalyse in dasselbe aufgenommen würde; eine kurze Schilderung könnte aber einen Nutzen für die praktischen Untersuchungen nicht gewähren. Man findet ausführliche Schilderung der Apparate und Methoden zur Elementaranalyse organischer Stoffe in der Anleitung zur quantitativen chemischen Analyse von Fresenius 6. Auflage Bd. 2. 1877.

Die organischen Stoffe hinsichtlich ihres Vorkommens, der Zusammensetzung und der chemischen Eigenschaften.

Kohlensäure CO_2.

62. Aus dem Blute und allen anderen Flüssigkeiten des thierischen Körpers wird Kohlensäure durch die Luftpumpe evacuirt; gasförmig enthalten sie exspirirte Luft und Darmgase. An Kalk gebunden findet sie sich in den Knochen und vielen pathologischen Concrementen, ebenso an Kalk oder andere Basen gebunden im Harne häufig (besonders im Harne der Pflanzenfresser). Sie wird endlich bei der Fäulniss organischer Stoffe (besonders im Harne) und ihrer Verbrennung reichlich gebildet.

Die freie Kohlensäure ist bei gewöhnlicher Temperatur und einem 40 Atmosphären nicht übersteigenden Drucke ein farbloses Gas von stechendem Geruche und Geschmacke. Sie ist nicht weiter oxydirbar, also auch nicht brennbar. Bei 0° und 76 Cm. Druck absorbirt Wasser sein $1\frac{1}{2}$faches, bei 10 bis 12° etwa sein einfaches Volumen Kohlensäure; das mit Kohlensäure beladene Wasser färbt blaues

*) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 8. S. 52.

Lackmuspapier roth, die rothe Färbung verliert sich aber bald beim Liegen des Papiers an der Luft.

Die Kohlensäure ist eine sehr schwache zweibasische Säure. Die neutralen kohlensauren Salze der Alkalien sind löslich in Wasser, ihre Lösungen reagiren stark alkalisch; in Alkohol sind diese Salze unlöslich. Die neutralen kohlensauren Erden sind in kohlensäurefreiem Wasser fast ganz unlöslich, in viel kohlensäurehaltigem Wasser lösen sie sich dagegen auf.

Die sauren kohlensauren Alkalien sind gut krystallisirbar, zerfallen jedoch leicht beim Erhitzen auf 100^{0}, auch selbst beim Stehen in einer Luft, die weniger als 1 pCt. Kohlensäure bei gewöhnlichem Luftdrucke enthält. Bei dieser Zerlegung bildet sich neutrales Salz unter Entweichen von Kohlensäure und Wasser. Die neutralen kohlensauren Alkalien zerlegen sich nicht bei mässigem Glühen, die Verbindung der Kohlensäure mit Calcium wird dagegen beim Glühen im Luftstrome zersetzt.

Wird zu einer Lösung eines neutralen kohlensauren Alkali allmälig eine ungenügende Menge einer Säure zugefügt, so verbindet sich diese mit der äquivalenten Menge des Alkali und die freigewordene Kohlensäure wandelt eine entsprechende Menge des noch übrigen kohlensauren Salzes in das saure Salz um. Wird dagegen schnell eine starke Säure hinzugefügt, so zerfällt durch die Erhitzung das saure kohlensaure Salz und es entweicht Kohlensäure unter Aufbrausen. Durch überschüssige stärkere Säuren wird aus ihren Verbindungen die Kohlensäure ausgetrieben und entweicht besonders beim Erwärmen schnell und vollständig.

Zum Nachweis der Kohlensäure dient hauptsächlich das Aufbrausen, welches sich einstellt, wenn die festen oder in Wasser gelösten Salze derselben mit einer starken Säure (verdünnter Schwefelsäure) im Ueberschusse versetzt werden, ferner die schwache Röthung von feuchtem Lackmuspapier in der kohlensäurehaltigen Luft, der Geruch und die Fällung von klar filtrirtem Kalk- oder Barytwasser. Der letzteren Probe bedient man sich auch, um die in Flüssigkeiten absorbirt enthaltene oder in Gasgemengen beigemischte Kohlensäure nachzuweisen. Um freie Kohlensäure in Flüssigkeiten nachzuweisen, bringt man dieselben am Besten in einen Kolben mit doppelt durchbohrtem Kork, durch dessen eine Bohrung eine Röhre bis zum Boden reicht. Man saugt nun mittelst eines Aspirators atmosphärische Luft, die in einem Kugelapparate durch Waschen mit

Kalilauge von Kohlensäure befreit ist, durch die zu prüfende Flüssigkeit, die Luft geht von dieser mit Kohlensäure, wenn diese vorhanden ist, gemengt durch das in der zweiten Bohrung befindliche Röhrchen in einen zweiten mit klarem Kalk- oder Barytwasser gefüllten Kugelapparat und die Kohlensäure fällt hier an Kalk oder Baryt gebunden als weisser Niederschlag oder Trübung nieder. Erwärmen der zu prüfenden Flüssigkeit im Kolben beschleunigt das Entweichen der Kohlensäure.

Flüchtige fette Säuren der Gruppe $C_nH_{2n}O_2$.

63. Die in menschlichen und thierischen Organismen vorkommenden hierher gehörenden Glieder dieser einbasischen Säuregruppe sind:

		Spec. Gew.	bei Temperatur.	Siedepunkt.	Schmelzpunkt.
Ameisensäure	$C\ H_2\ O_2$	1,223	0°	99°	+ 8,6°
Essigsäure	$C_2\ H_4\ O_2$	1,056	15,5°	118°	+ 17,0°
Propionsäure	$C_3\ H_6\ O_2$	0,996	19°	140,7°	—
Buttersäure	$C_4\ H_8\ O_2$	0,963	15°	163°	0°
Isobuttersäure . . .	$C_4\ H_8\ O_2$	0,960	0°	154°	—
Valeriansäure	$C_5\ H_{10}\ O_2$	0,947	0°	175°	—
Capronsäure	$C_6\ H_{12}\ O_2$	0,945	0°	205°	— 2°
Caprylsäure	$C_8\ H_{16}\ O_2$	0,911	20°	237°	+ 14,5°
Caprinsäure	$C_{10}\ H_{20}\ O_2$	0,930	37°	267°	+ 30°
Laurostearinsäure . .	$C_{12}\ H_{24}\ O_2$	—	—	—	+ 43,6°
Myristinsäure	$C_{14}\ H_{28}\ O_2$	—	—	—	+ 53,8°
Palmitinsäure	$C_{16}\ H_{32}\ O_2$	—	—	—	+ 62°
Stearinsäure	$C_{18}\ H_{36}\ O_2$	—	—	—	+ 69,2°
Arachinsäure	$C_{20}\ H_{40}\ O_2$	—	—	—	+ 75°
Hyänasäure	$C_{25}\ H_{50}\ O_2$	—	—	—	+ 77°—78°
Cerotinsäure	$C_{27}\ H_{54}\ O_2$	—	—	—	+ 78°

Zur Identificirung haben für die Säuren von niedrigerem Moleculargewicht die Siedepunkte hohe Bedeutung, für die von hohem Moleculargewicht die Schmelzpunkte. Wo keine Angaben über spec. Gewicht, Siedepunkt und Schmelzpunkt gemacht sind, fehlen noch zuverlässige Bestimmungen.

Vergleicht man zwei in ihrer Zusammensetzung einander nahe stehende Glieder dieser Säurereihe hinsichtlich ihrer chemischen Eigenschaften, so ist es nur bei einigen bis jetzt möglich, bestimmte Unterschiede beider aufzufinden, die nicht blos graduelle Differenzen wären, während die in ihrer Zusammensetzung weit von einander verschiedenen Glieder dieser Reihe sich leicht von einander trennen

und in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften sich auch leicht unterscheiden lassen. Die Schwierigkeit des Nachweises dieser Substanzen im Einzelnen wird durch den Umstand noch wesentlich erhöht, dass gerade die in ihrer Zusammensetzung einander nahe stehenden Säuren der obigen Reihe in den Organismen zusammen in denselben Organen, in denselben Flüssigkeiten vorzukommen pflegen. So finden sich in dem menschlichen und thierischen Fett als wesentliche Bestandtheile vielleicht überall Palmitinsäure und Stearinsäure neben einander in verschiedenen Mengenverhältnissen in Verbindung mit Glycerin, während Myristinsäure, Laurostearinsäure, Caprin-, Capryl-, Capron- und Buttersäure sich nicht constant darin finden und wenn sie überhaupt darin auftreten, nur in relativ geringen Mengen sich zeigen. Andererseits sind im Schweisse des Menschen und verschiedener Thiere die niederen Glieder dieser Säurereihe enthalten, ebenso im Safte der Milz, während hier die obigen Säuren vom höheren Moleculargewichte fehlen. Bei der Fäulniss der Eiweiss- und Leimstoffe bilden sich viele der obigen Säuren neben einander, ohne dass es erwiesen wäre, ob sie alle dabei entstehen können, zweifelhaft ist es besonders für die Säuren von der Laurostearinsäure bis zur Stearinsäure. Nur in den festen Excrementen sind sowie im Dickdarminhalte, theils aus der Nahrung herrührend, theils im Darmcanale gebildet, fast alle obige Säuren enthalten. Wegen der grossen Aehnlichkeit unter einander kann die specielle Schilderung der einzelnen hierher gehörenden Säuren sich sehr kurz fassen.

Ameisensäure.

64. In ziemlich concentrirter Lösung findet sich freie Ameisensäure in den Ameisen; auch in Raupen hat man sie nachgewiesen (Processionsraupe). Im menschlichen Körper soll sie in der Milzflüssigkeit vorhanden sein, auch vom Schweisse, Blute, Harne, ferner Muskeln, Pancreas, Thymus wird ihr Vorkommen angegeben. Sie entsteht bei Zersetzung des Blutfarbstoffes sowie eines im Harne häufig auftretenden, kaum gekannten Körpers durch Säuren. Künstlich dargestellt wird sie am Besten durch Destillation von entwässerter Oxalsäure mit trocknem Glycerin.

Die Ameisensäure unterscheidet sich von allen oben genannten übrigen fetten Säuren durch ihren stechenden Geruch und ihre leichte Zerlegung. Sie zersetzt sich in Berührung mit feinvertheiltem Rhodium zu

CO_2 und H_2 unter Freiwerden von Wärme; durch Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure zerfällt sie in Kohlenoxyd und Wasser, durch Erhitzen mit Aetzkali oder besser Baryt bildet sie unter Wasserstoffentwickelung Oxalsäure. Salpetersaures Silberoxyd wird durch Ameisensäure beim Kochen schnell zu metallischem Silber verändert, während Kohlensäure entweicht. Quecksilberoxydsalze, auch Quecksilberchlorid werden zunächst durch Erwärmen mit Ameisensäure in Oxydulsalze unter Kohlensäureentwickelung umgewandelt, beim fortgesetzten Erwärmen (allmälig bei gewöhnlicher Temperatur) tritt Reduction zu metallischem Quecksilber unter erneuter Entwickelung von Kohlensäure ein. Fügt man daher zu einer sauren Lösung von Ameisensäure Silberoxyd oder Quecksilberoxyd und kocht, so wird die Ameisensäure völlig zu Kohlensäure und Wasser zersetzt. Durch Fäulnissfermente, z. B. Kloakenschlamm werden ameisensaure Salze zu kohlensauren zersetzt unter Entwickelung von 2 Vol. H_2 auf 1 Vol. CO_2.

Ihre Salze sind alle in Wasser leicht löslich, am Schwersten das Quecksilberoxydulsalz, welches sich jedoch, wie oben angegeben, leicht zerlegt; das Bleisalz ist in 36 Theilen Wasser löslich. Eine neutrale Flüssigkeit, welche Ameisensäure enthält, gibt mit neutralem Eisenchlorid eine dunkelrothe Färbung der Lösung und beim Kochen gelben Niederschlag eines basischen Salzes.

Zu ihrer Entfernung aus Flüssigkeiten benutzt man Quecksilberoxyd, zu ihrem Nachweis dies Verhalten gegen salpetersaures Silberoxyd sowie gegen Eisenchlorid.

Essigsäure.

65. Freie Essigsäure findet sich normal in menschlichen Fäcalstoffen, pathologisch nicht selten im Mageninhalte (Erbrochenen) bei Störungen der Magenverdauung, auch ohne vorangegangenen Essiggenuss, durch eine daselbst verlaufende Gährung von Milch, Brod u. s. w. entstanden, besonders häufig bei kleinen Kindern, zusammen mit freier Milchsäure. Nur in geringen Spuren sind essigsaure Salze im Safte verschiedener Organe (Milz, Muskeln), im Blute bei Leukämie, im Schweisse, in der Galle nachgewiesen. Sie bildet sich häufig und reichlich im aufbewahrten diabetischen Harne.

Man stellt die Essigsäure durch Gährung von Wein oder Bier mit Essighefe oder aus den Producten der trocknen Destillation des Holzes dar, die concentrirte wird gewöhnlich durch Destillation von

getrocknetem essigsauren Natron mit concentrirter Schwefelsäure erhalten.

Die Essigsäure besitzt einen bekannten, charakteristischen Geruch; sie mischt sich mit Wasser in jedem Verhältnisse, wird durch concentrirte Schwefelsäure beim Erhitzen kaum angegriffen (meist geringe Schwärzung unter Entwickelung von schwefliger Säure). Salpetersaures Silberoxyd giebt mit hinreichend concentrirten Lösungen essigsaurer Salze weissen Niederschlag von essigsaurem Silberoxyd, der in heissem Wasser leichter löslich ist und beim Erkalten der heiss concentrirten Lösung in blättrigen Krystallnadeln, löslich bei 14° in 98 Thln. Wasser, sich ausscheidet; Reduction des Silbers tritt beim Kochen nicht ein. Gegen Eisenchlorid verhalten sich die neutralen Salzlösungen der Essigsäure wie die der Ameisensäure.

Die Propionsäure, auch Metacetonsäure genannt, soll sich im Schweisse, in der Galle und zuweilen auch im Mageninhalte finden. Man stellt sie dar durch Kochen von Propionitril mit Kalilauge.

Die Propionsäure entsteht leicht bei Gährungen von milchsaurem Kalk neben Essigsäure und Buttersäure. Die reine Propionsäure besitzt einen der Essigsäure ähnlichen Geruch, mischt sich in jedem Verhältnisse mit Wasser, wird aber durch viel Chlorcalcium aus der Lösung als ölige Flüssigkeit abgeschieden. Ihre Salze sind gleichfalls denen der Essigsäure sehr ähnlich, das Natronsalz ist leichter löslich in Wasser als das essigsaure Natron.

Buttersäure.

66. Die normale Buttersäure wurde zuerst in der Butter entdeckt, in welcher sie an Glycerin gebunden ist und beim Ranzigwerden der Butter zum Theil frei wird; sie ist ausserdem reichlich im Schweisse, im Dickdarminhalte und den festen Excrementen, zuweilen im Mageninhalte und Harne aufgefunden. Auch im Blute, Safte der Milz, Ovarialcystenflüssigkeit und Muskeln ist sie gefunden. Endlich ist sie in dem braunen Safte, den die Laufkäfer von sich geben, enthalten.

Man stellt die Buttersäure durch Gährung von milchsaurem Kalk mit altem Käse, Fällung des gebildeten buttersauren Kalkes mit kohlensaurem Natron, Eindampfen der Lösung und Destillation der concentrirten Flüssigkeit mit verdünnter Schwefelsäure dar. Sie entsteht reichlich beim Schmelzen von Eiweiss mit Aetzkali, wenig beim Erhitzen von milchsaurem Kalk mit Natronkalk.

Sie ist im Wasser in jedem Verhältnisse löslich, ebenso in Alkohol

oder Aether, besitzt einen ihr eigenthümlichen, unangenehmen, durchdringenden Geruch (nach ranziger Butter), wird durch Chlorcalcium und ebenso durch manche andere Salze aus ihrer wässerigen Lösung ölartig abgeschieden. Die trockne ölige Säure vereinigt sich beim längern Stehen mit Chlorcalcium zu einer festen krystallinischen Masse ebenso wie manche andere ihr homologe Säuren. Das Barytsalz krystallisirt aus heisser wässriger Lösung mit 2, aus kalter Lösung mit 4 Mol. Krystallwasser, löst sich leichter in Wasser als das capronsaure Salz. Das Kalksalz mit 1 Mol. Krystallwasser krystallisirt in zarten Nadeln, seine kalt gesättigte wässrige Lösung scheidet bei 70 bis 100^0 fast das ganze Salz krystallinisch aus. 1 Theil Salz löst sich in 3,5 Theilen Wasser. Das Silbersalz wird aus concentrirter wässriger Lösung eines Alkalisalzes durch Silbernitrat gefällt.

Isobuttersäure

67. wird aus Isopropylcyanid durch Kochen mit Kalilauge oder durch Oxydation von Isobutylalkohol erhalten uud findet sich in den Fäces, sowie in Fäulnissproducten von Eiweissstoffen. Sie mischt sich nicht in allen Verhältnissen mit Wasser, sondern erfordert davon 3 Theile bei gewöhnlicher Temperatur zur Lösung. Durch Oxydation wird sie leichter angegriffen als die normale Säure und durch Chromsäure zu Aceton, Essigsäure und CO_2 zersetzt. Ihr Calciumsalz löst sich bei 18^0 in 2,8 Theilen Wasser, in heissem Wasser viel reichlicher (guter Unterschied von der normalen Säure). Das Silbersalz ist leichter löslich in heissem Wasser als das Salz der normalen Säure; es wird aus concentrirter Lösung eines Alkalisalzes durch Silbernitrat erhalten. Isobuttersaures Guanidin liefert beim Erhitzen isobuttersaures Guanamin, welches in Wasser schwer löslich ist und in spitzen Rhomboedern krystallisirt.

Valeriansäure.

68. Valeriansäure ist gefunden im Thran von Delphinus globiceps, in Fäces von Menschen, bildet sich reichlich bei Fäulniss aus unreinem Leucin an der Luft neben Ammoniak und CO_2. Ob die hier gefundenen Säuren normale oder mit der aus Gährungsamylalkohol durch Oxydation erhaltenen Säure identisch sind, müssen weitere Untersuchungen genauer feststellen. Die aus Gährungsamylalkohol durch Erhitzen mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure gebildete, auch in

vielen Pflanzen gefundene Säure ist in 30 Theilen Wasser löslich, wird durch Salze aus dieser Lösung abgeschieden. Ihr Barytsalz und das 3 Mol. Krystallwasser enthaltende Kalksalz sind leicht löslich in Wasser, gut krystallisirbar. Das Silbersalz ist in Wasser sehr schwer löslich.

Capronsäure

69. findet sich in der Butter, im Limburger Käse, in den Fäces, bildet sich oft sehr reichlich bei der Fäulniss besonders aus Milchsäure oder Glycerin. Sie ist in Wasser kaum löslich. Der capronsaure Baryt krystallisirt wasserfrei in radial gestellten feinen Nadeln; 100 Theile Wasser lösen bei 24° 10,2 Theile des Salzes nach Wein, bei 18,5° 8,5 Theile Salz nach Lieben und Rossi. In heissem Wasser viel reichlicher löslich. Das Calciumcapronat krystallisirt mit 1 Mol. Krystallwasser in dünnen glänzenden Krystallblättchen oder langen verzweigten Nadeln, nicht leicht löslich in Wasser und in heissem ungefähr ebenso wie in kaltem Wasser. Das Silbersalz bildet eine käsige Masse, fast unlöslich in kaltem, schwer löslich in heissem Wasser, aus heisser wässriger Lösung in kleinen Nadeln krystallisirend.

Caprylsäure.

In der Butter als Glycerinverbindung enthalten, nach Lerch auch im Menschenfett und im Schweiss. Sie löst sich nur sehr wenig in Wasser. Das Barytsalz krystallisirt wasserfrei, es lösen sich bei 18° nach Wein 0,76 Theile, bei 10° nach Fehling 0,79 Theile, bei 20° 0,62 Theile des Salzes in 100 Theilen Wasser.

Caprinsäure.

In der Butter als Glycerinverbindung, sie bildet weisse Krystallblättchen. Das Barytsalz krystallisirt in fettglänzenden Nadeln, in kaltem Wasser kaum, in kochendem Alkohol oder Wasser etwas löslich. Das Calciumsalz ist auch schwer löslich in Alkohol oder Wasser, bildet voluminöse glänzende Blättchen. Das Silbersalz aus der Lösung von Ammoniumcaprinat gefällt stellt einen weissen, in heissem Wasser sehr wenig, in heissem Alkohol reichlicher löslichen, in kaltem Wasser unlöslichen Niederschlag dar.

Zur Trennung der Buttersäure, Capron-, Capryl- und Caprinsäure

von einander empfiehlt Wein*) die Barytsalze durch concentrirte Phosphorsäure zu zerlegen, die Oelschicht abzuheben und im CO_2-strome fractionirt zu destilliren. Aus dem unter 220° übergehenden Theil Buttersäure und Capronsäure, aus der Fraction 220—260° die Caprylsäure zu gewinnen, der bei 260—280° übergehende Theil giebt die Caprinsäure. Die Capronsäure kann durch Waschen mit Wasser von Buttersäure befreit werden.

Laurostearinsäure, Myristinsäure.

Diese Säuren finden sich in geringen Mengen wie es scheint im Wallrath und in der Butter, vielleicht auch in den übrigen Fetten. Ihre Darstellung und Trennung geschieht nach den unten zu erörternden Methoden. Die Laurostearinsäure siedet bei 100 Mm. Barometerdruck bei 225,5°, die Myristinsäure bei dem gleichen Druck gegen 248°**). Charakteristische Reactionen fehlen gänzlich, ihr Nachweis geschieht nach dem in den folgenden Paragraphen anzugebenden Verfahren.

Palmitinsäure, Stearinsäure.

70. Das im Unterhautbindegewebe, sowie an anderen Orten des menschlichen Körpers und bei Thieren abgelagerte Fett enthält ausser der später zu beschreibenden Oelsäure hauptsächlich Palmitinsäure und Stearinsäure in ihren Glycerinverbindungen, ebenso sind beide reichlich in der Butter und im Wallrath enthalten, in letzterem verbunden mit dem Cetylalkohol, im Lecithin in Verbindung mit Glycerinphosphorsäure und Neurin. Auch pathologische Fettbildungen enthalten beide. In Verbindung mit Kalk finden sich beide Säuren in den Fäces und im Leichenfette (Adipocire), wahrscheinlich in Verbindung mit Natron im Blutserum und den Transsudaten, auch im Eiter. Im freien Zustande finden sie sich im zersetzten Eiter, Brandjauche, zerfallenen käsigen Tuberkelmassen.

Ein Gemenge beider Säuren hielt man früher für eine besondere Säure, welche Margarinsäure genannt wurde. Heintz zeigte, dass sich diese Gemenge durch seine unten zu beschreibende Methode stets

---

*) Wein, Sitzungsber. d. phys. med. Soc. in Erlangen 15. Jan. 1877 und Diss. Erlangen 1876.

**) Kraft, Ber. d. chem. Gesellsch. 1879. S. 1664 u. 1668.

in jene beiden Säuren zerlegen lassen, diese Methode ist auch die einzige zuverlässige Darstellungsweise jener Säuren. Palmitinsäure wird nebst Essigsäure durch Schmelzen von Oelsäure mit Aetzkali gebildet.

Beide obige Säuren sind geruch- und geschmacklose, krystallinische Massen. Der Schmelzpunkt der Palmitinsäure liegt bei 62,0°, der der Stearinsäure bei 69,2°, aber diese Säuren lösen einander auf und die Schmelzpunkte ihrer Mischungen liegen tiefer als 62°. Nach den Bestimmungen von Heintz*) zeigen die Gemische folgende Schmelzpunkte:

Ein Gemisch von

Stearinsäure	Palmitinsäure	schmilzt bei	erstarrt bei
90	10	67,2°	62,5°
80	20	65,3°	60,3°
70	30	62,9°	59,3°
60	40	60,3°	56,5°
50	50	56,6°	55,0°
40	60	56,3°	54,5°
30	70	55,1°	54,0°
20	80	57,5°	53,8°
10	90	60,1°	54,5°

Die Mischung gleicher Theile beider Säuren krystallisirt am Schönsten grossblättrig, die reinen Säuren bilden dagegen schuppig krystallinische, perlmutterglänzende Massen, die bei der mikroskopischen Untersuchung als dünne, rhombische, biegsame Blättchen sich ergeben. Beide Säuren sind in Wasser ganz unlöslich, in Alkohol löst sich die Palmitinsäure leichter als die Stearinsäure, in kochendem Alkohol sowie in Aether, Chloroform sind sie leicht löslich; auch Eisessig löst sie reichlich, besonders in der Wärme; durch Wasser werden sie aus der Lösung in Eisessig oder Alkohol abgeschieden. Von ätzenden Alkalilaugen werden sie aufgelöst, und kocht man sie mit wässeriger Lösung kohlensaurer Alkalien und dampft das Gemenge zur Trockne ab, so treiben sie die Kohlensäure aus und bilden Salze. Diese Alkalisalze sind in Wasser sehr leicht löslich, werden aber durch Zusatz von viel Wasser in Alkali und saures palmitinsaures oder saures stearinsaures Alkali zerlegt, welche sauren Salze seidenartig glänzende, krystallinische, sich schwer absetzende Niederschläge bilden. Das palmitinsaure und stearinsaure Kali und Natron sind

*) Poggendorff, Annal. d. Phys. u. Chem. Bd. 92. S. 588.

wesentliche Bestandtheile der gewöhnlichen Seifen. In heissem Alkohol sind diese Alkalisalze ziemlich leicht löslich, scheiden sich aber aus der concentrirten Lösung beim Erkalten theilweise gallertartig aus (die Gallert wandelt sich allmälig in Krystalle um). Die Verbindungen der Palmitinsäure und der Stearinsäure mit alkalischen Erden oder mit den Oxyden der schweren Metalle sind in Wasser völlig unlöslich. Fügt man daher zu einer heissen alkoholischen Lösung jener Säuren oder ihrer Alkalisalze etwas essigsauren Baryt, so erhält man einen Niederschlag von palmitinsaurem und stearinsaurem Baryt, ebenso verhält es sich, wenn man essigsaure Magnesia statt des Barytsalzes wählt.

Fügt man nun zu der siedend heissen Lösung eines Gemisches von palmitinsaurem und stearinsaurem Natron in Alkohol in kleinen Portionen eine heisse gesättigte Lösung von essigsaurem Baryt, so fällt zuerst nur stearinsaurer Baryt aus, später ein Gemenge von stearinsaurem und palmitinsaurem Salz und zuletzt reiner palmitinsaurer Baryt.

Nach dieser Methode der partiellen Fällung, wie sie Heintz zuerst angewendet hat, ist man im Stande, successive Stearinsäure, Palmitinsäure, Myristinsäure, Laurostearinsäure völlig rein in ihren Baryt- oder Magnesiasalzen darzustellen. Man erhält aus den Salzen die Säuren, indem man die ersteren in Wasser zertheilt, mit Salzsäure und dann mit Aether übergiesst, gut schüttelt, den Aether abgiesst, mit etwas Wasser wäscht und dann abdestillirt, es bleibt dann die reine Säure zurück. Im Uebrigen bezüglich des Nachweises siehe die folgenden Paragraphen.

Butinsäure $C_{20}H_{40}O_2$ hat Heintz eine Säure genannt, die sich in der Butter findet und durch fractionirte Fällung isolirt wird, sie scheint mit der Arachinsäure aus dem Erdnussöl identisch zu sein.

Hyänasäure ist eine fette Säure von Carius genannt, die von ihm in der Fettmasse an den Analdrüsen einer Hyäne neben Palmitinsäure und Oxalsäure an Glycerin gebunden und dann von Schultze*) in Verbindung mit Cholesterinen im Fett der Schafwolle gefunden wurde. Sie ist schwer löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Alkohol, scheidet sich beim Erkalten der heissen alkoholischen Lösung in Körnern mikroskopischer Nadeln aus. In den meisten Eigenschaften stimmt sie mit der Stearinsäure überein Von den anderen Säuren wurde sie durch fractionirte Fällung getrennt.

---

*) Vergl. Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie. Berlin 1881. S. 762.

Untersuchung von Flüssigkeiten auf einen Gehalt an Ameisensäure, Essigsäure u. s. w. bis zur Caprinsäure; Trennung dieser Säuren von einander.

71. Die flüchtigen fetten Säuren von niedrigerem Moleculargewicht bis zur Caprinsäure lassen sich durch Destillation von den nicht flüchtigen Körpern trennen. Harn oder Schweiss kann man ohne Weiteres mit verdünnter Schwefelsäure versetzt behufs dieser Trennung der Destillation unterwerfen; allerdings können dabei im Harne durch Einwirkung der Säure auf gewisse Stoffe fette flüchtige Säuren gebildet werden*). Seröse Flüssigkeiten, die frei von Blutfarbstoff sind, werden am Einfachsten mit dem mindestens dreifachen Volumen Weingeist kalt gefällt, filtrirt, das Filtrat nöthigenfalls nach Zusatz von etwas kohlensaurem Natron durch Abdestilliren des Alkohol concentrirt, dann auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen verdunstet und der Rückstand nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure destillirt. Blut, sowie bluthaltige Organe können erst dann auf flüchtige Säuren geprüft werden, nachdem nicht allein die Eiweissstoffe gefällt, sondern auch der Blutfarbstoff in solcher Weise abgeschieden ist, dass er nicht zersetzt war. Es würde sich dies auf zwei Wegen erreichen lassen, entweder 1) kann man nach Mischung des Blutes mit verdünnter Lösung von schwefelsaurem Natron resp. nach Extraction der zerkleinerten Organe mit einer solchen Lösung die Blutkörperchen sich senken lassen, die abgegossene blutfarbstofffreie oder doch wenigstens blutfarbstoffarme Lösung eindampfen und nach Abfiltriren der Albuminstoffe mit verdünnter Schwefelsäure destilliren, oder 2) das Blut oder die zerkleinerten Organe mit möglichst kaltem Alkohol schnell gut zusammenrühren unter Einsetzen in Kältemischung, kalt filtriren und das Filtrat, wie es oben für seröse Flüssigkeiten angegeben ist, weiter behandeln. Fäces extrahirt man zunächst mit Alkohol, filtrirt, neutralisirt mit kohlensaurem Natron, dampft zur Trockne ab und destillirt den Rückstand in Wasser gelöst mit verdünnter Schwefelsäure.

Man setzt in allen Fällen die Destillation so lange fort, bis die Masse in der Retorte sehr concentrirt geworden ist (riecht der Rückstand noch stark nach fetten Säuren, so fügt man Wasser hinzu und destillirt wieder ab).

Die bei diesen Destillationen erhaltenen Flüssigkeiten können

*) Buliginsky, Med. chem. Mittheil. von Hoppe-Seyler, Heft 2. S. 240.

die oben genannten fetten Säuren von der Ameisensäure bis zur Caprinsäure enthalten, von der Laurostearinsäure gehen nur geringe Mengen über.

Um den Ueberschuss des Wassers im Destillate zu entfernen, übersättigt man mit kohlensaurem Natron, dampft im Wasserbade auf ein kleines Volumen ein, fügt verdünnte Schwefelsäure im Ueberschuss hinzu und destillirt abermals.

Von dem Destillat prüft man eine Probe nach Sättigung mit Ammoniak durch Kochen mit Silbernitrat auf Ameisensäure (Reduction von Silber). Das übrige Destillat sättigt man mit reinem Chlorcalcium und trennt im Scheidetrichter eine etwa abgeschiedene Oelschicht ab (ist ihre Quantität sehr gering, so filtrirt man die Oeltropfen haltige Flüssigkeit durch ein mit Chlorcalciumlösung getränktes Papierfilter ab). Die ölig abgeschiedenen Säuren werden, wenn genügende Quantität zu Gebote steht, fractionirter Destillation unterworfen, wobei das längere Beharren einer Siedetemperatur sofort zu erkennen giebt, welche Säure hauptsächlich vorhanden ist. Die Fractionen, welche hauptsächlich Essigsäure und Propionsäure enthalten, werden nöthigenfalls nach nochmaliger Fractionirung zweckmässig mit Ammoniak gesättigt in hinreichend concentrirter wässeriger Lösung durch fractionirte Fällung mit Silbernitrat in Silbersalze verwandelt. Die Wägung und Analyse derselben ergiebt die Menge und Zusammensetzung dieser fetten Säuren. Die Fractionen, welche hauptsächlich Buttersäure, Isobuttersäure, Valeriansäure enthalten können, werden ebenso zu behandeln sein, wenn es sich nicht gerade um Entscheidung zwischen normaler und Isobuttersäure handelt, für welche die Schwerlöslichkeit des buttersauren Kalkes in heissem Wasser, die unvollständige Löslichkeit der freien Isobuttersäure in wenig Wasser und das verschiedene Verhalten der Guanaminverbindungen die Unterschiede ergeben. Capronsäure kann durch Waschen mit etwas Wasser von Buttersäure befreit werden. Capron-, Capryl- und Caprinsäure können durch fractionirte Fällung und Krystallisation der Barytsalze nach vorausgehender fractionirter Destillation (vergl. oben § 69 am Ende) getrennt werden. Die Barytsalze dieser Säuren bildet man durch Uebersättigen mit Barytwasser, Einleiten von CO_2, Abdampfen zur Krystallisation, Extraction mit heissem Wasser, Filtriren und Abdampfen zur Krystallisation.

Die durch Chlorcalcium nicht abgeschiedenen Ameisensäure und Essigsäure werden durch Destillation von Chlorcalcium befreit, das

wässerige Destillat mit Aetzbaryt alkalisch gemacht, dann CO_2 eingeleitet, filtrirt, zur Krystallmasse eingedampft, der Rückstand mit Wasser extrahirt, filtrirt und das Filtrat zur Krystallisation gebracht.

Die Barytsalze der fetten Säuren können für Wägung und Analyse über 150° ohne Nachtheil zur Trocknung erhitzt werden, Silbersalze nicht über 100°. Den Silbergehalt erhält man durch Glühen gewogener Quantität des Salzes im Porcellantiegel, den Barytgehalt nach Veraschung durch Lösen in Salzsäure, Fällung mit Schwefelsäure und Glühen des schwefelsauren Baryt, den Calciumgehalt in dem bei 150° getrockneten Salz durch Glühen mit Gebläse oder Hempel'schen Glühofen und Wägung des Calciumoxyd.

Bei der Untersuchung des Harns kann es sich ereignen, dass Benzoësäure in das Destillat übergeht, welche dann besonders die Gruppe der Capron-, Capryl-, Caprinsäure verunreinigen würde, wenn Glieder derselben vorhanden sind.

Aufsuchung und Trennung der Palmitinsäure, Stearinsäure.

(Laurostearin-, Myristin-, Butinsäure.)

72. Bei der Destillation wässeriger Flüssigkeiten mit Schwefelsäure gehen Palmitinsäure und Stearinsäure nicht in gut bestimmbaren Quantitäten über, da diese Säuren aber in Wasser und verdünnter Säure unlöslich, in Aether leicht löslich sind, so lassen sie sich leicht vom grössten Theile der mit ihnen in thierischen Flüssigkeiten zusammen auftretenden Stoffe trennen. Man schüttelt entweder, wenn man auf die freien Säuren untersuchen will, die hinreichend concentrirten Flüssigkeiten oder breiigen Massen, oder fein pulverisirten, festen Stoffe mit Aether, lässt einige Zeit stehen und giesst dann die Aetherlösung ab, oder man fügt, wenn man auf die an Basen gebundene Palmitinsäure und Stearinsäure prüfen will, vor dieser Behandlung verdünnte Schwefelsäure zu der zu untersuchenden Masse und schüttelt nun mit Aether u. s. w. Die klare Aetherlösung schüttelt man in einer Flasche mit etwas Natronlauge, giesst dann nach einiger Zeit den Aether ab, wäscht die Lauge noch einige Male zur Entfernung der Fette, die etwa im Aetherextracte enthalten sind, mit etwas Aether, erwärmt dann die Lauge auf dem Wasserbade zur Entfernung des in derselben gelösten Aethers und übersättigt dann mit Salzsäure.

Palmitinsäure, Stearinsäure, sowie die ihnen in der obigen Reihe

(vergl. § 63) zunächst stehenden Säuren werden auf diese Weise ausgefällt. Um die Säure gut abzuscheiden, erhitzt man die Flüssigkeit zum Kochen, filtrirt nach dem Erstarren der Säure beim Erkalten der Flüssigkeit ab.

Man prüft nun den Schmelzpunkt des erhaltenen Säuregemisches, indem man dasselbe wieder zum Schmelzen erhitzt und in ein Capillarrohr etwas von dem Oel einsaugt. Man füllt dann einen Glaskolben bis zum Halse mit klarem Wasser, setzt denselben auf ein Wasserbad und hängt obiges Thermometer so auf, dass die Kugel mit dem das zu prüfende Säuregemisch enthaltenden Röhrchen in der Mitte des Kolben im Wasser sich befindet (man bindet zu diesem Zwecke am Besten das Röhrchen an das Thermometer), erhitzt allmälig das Wasserbad und beobachtet, bei welcher Temperatur das Schmelzen und dann wieder beim Erkalten die Erstarrung eintritt (vergl. § 70 Tabelle der Schmelzpunkte).

Dieser Gang der Untersuchung erleidet weitere Complication, wenn die untersuchten Substanzen Cholalsäure oder Lithofellinsäure enthielten, da diese Säuren dann auch im obigen Säuregemische enthalten sein werden. Um nun auch von diesen Stoffen Palmitinsäure und Stearinsäure zu trennen, schüttelt man die ätherische Lösung der Säuren mit überschüssigem Barytwasser gut zusammen, filtrirt den Niederschlag ab, wäscht ihn mit wenig kochendem Wasser mehrmals aus, zuletzt mit warmem Weingeist, zerlegt das rückständige Barytsalz mit Salzsäure, wäscht mit Wasser gut aus und erhält als Rückstand das Gemisch von Palmitinsäure und Stearinsäure, wenn überhaupt beide vorhanden sind. Nach der Bestimmung des Schmelzpunktes, die mit der geschmolzenen Masse in der oben beschriebenen Weise ausgeführt wird, löst man in heissem Alkohol, fügt zur Sättigung der Säure hinreichende Lösung von kohlensaurem Natron hinzu und dampft auf dem Wasserbade zur Trockne ab, erhitzt noch im Luftbade auf 130°, extrahirt dann den fein gepulverten Rückstand mit kochendem absoluten Alkohol und filtrirt heiss. Diese Lösung von palmitinsaurem und stearinsaurem Natron wird nun fractionirt gefällt; man erhitzt nämlich dieselbe wieder auf dem Wasserbade bis nahe zum Sieden, fügt dann zunächst 1 bis 2 Tropfen Lösung von Chlorbarium oder von essigsaurem Baryt hinzu, filtrirt schnell, erhitzt das Filtrat wieder zum Sieden, fügt eine neue kleine Portion Barytsalzlösung hinzu und filtrirt heiss durch ein anderes Filterchen und

fährt in dieser Weise fort, bis ein neuer Zusatz von Barytsalz zur alkoholischen Lösung keinen weiteren Niederschlag giebt.

Der erste Barytniederschlag kann etwas kohlensauren Baryt enthalten; die übrigen Niederschläge untersucht man nach dem Waschen mit warmem Alkohol und Trocknen bei 120° in derselben Weise auf ihren Barytgehalt, wie es im vorigen Paragraphen für die Barytsalze der anderen Glieder der Gruppe der fetten Säuren angegeben ist. Es enthalten nach den Formeln:

100 Gew.-Thle.	Palmitinsaurer Baryt	21,17	Gew.-Thle Barium.
„ „ „	Stearinsaurer „	19,19	„ „ „

Steht nicht so viel Material zu Gebote, um die angegebenen Untersuchungen auszuführen, so kann man durch das Verhalten der mit Aether extrahirten Substanzen gegen Alkalilauge und Säuren, Schmelzen beim Erwärmen und Krystallisation beim Erkalten der heissen alkoholischen Lösung wohl mit Wahrscheinlichkeit ein Gemisch beider Säuren erkennen, aber man weiss nichts über die Zusammensetzung desselben.

Oelsäure $C_{18}H_{34}O_2$.

73. Die Oelsäure findet sich gebunden an Glycerin in allen Fetten des thierischen Körpers und kommt im freien Zustande oder an Alkali gebunden höchstens in Spuren an anderen Orten vor als im Dünndarminhalte.

Zur Darstellung eignet sich das unten bezüglich ihres Nachweises angegebene Verfahren.

Die reine Oelsäure bildet bei gewöhnlicher Temperatur eine farb-, geschmack- und geruchlose ölige Flüssigkeit, die bei + 4° zu einer Krystallmasse erstarrt. Sie ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol oder Aether, Chloroform. Im Wasserdampfstrome von 250° destillirt die Oelsäure unzersetzt über. Die destillirte Säure verändert sich nur sehr langsam, die nicht destillirte schnell an der Luft unter Sauerstoffaufnahme und Bildung der sauren Substanzen, welche im alten Fette den ranzigen Geruch und Geschmack bewirken. Die Verbindungen der Oelsäure mit Alkali sind löslich in Wasser oder Alkohol, nicht löslich in concentrirter Alkalilauge oder Salzlösungen; die Natronverbindung ist bei gewöhnlicher Temperatur nicht zerfliesslich, wohl aber die Kaliverbindung; auf dieser Differenz der Eigenschaften beruht die Verschiedenheit der Kali- und Natronseifen. Die wässerige

Lösung der Alkaliverbindungen wird durch essigsaures Bleioxyd gefällt, der weisse zähe Niederschlag, ölsaures Bleioxyd, welcher die zähe klebrige Beschaffenheit der Bleipflaster bedingt, ist löslich in Aether, weniger in Alkohol, unlöslich in Wasser.

Beim schnellen Erhitzen für sich oder mit einem Ueberschusse an Aetzkali giebt die unzersetzte Oelsäure Sebacylsäure, welche durch heisses Wasser aus dem Rückstande gelöst, heiss filtrirt, nach dem Erkalten der concentrirten Lösung sich in seideglänzenden blättrigen Nadeln abscheidet, die sich in Alkalilauge leicht lösen.

Durch Einleiten von salpetriger Säure wird die Oelsäure bald fest unter Bildung der ihr isomeren, bei 45° schmelzenden Elaïdinsäure.

Mit Kalihydrat zum Schmelzen vorsichtig erhitzt zerlegt sich Oelsäure in Palmitinsäure und Essigsäure.

Zur Gewinnung der Oelsäure kann man in gleicher Weise zunächst verfahren, wie es für die Palmitin- und Stearinsäure im vorigen Paragraphen angegeben ist. Man neutralisirt durch Schütteln der ätherischen Lösung mit ein wenig wässriger verdünnter Natronlauge, schüttet den Aether ab, wäscht die Lauge noch mit einigen Aetherportionen, leitet dann Kohlensäure zur Sättigung des freien Alkali ein, dampft zur Trockne ab, extrahirt den Rückstand mit heissem Alkohol, filtrirt, fällt die alkoholische Lösung mit essigsaurem Bleioxyd, dampft das Ganze zur Trockne ein und extrahirt den Rückstand mit Aether, welcher nur das ölsaure Bleioxyd aufnimmt. Man filtrirt die ätherische Lösung ab, schüttelt sie mit verdünnter Salzsäure in einem mit Kohlensäure vorher gefüllten Gefässe, giesst dann die ätherische Lösung der Oelsäure ab und destillirt aus einem mit Kohlensäure gefüllten Kolben den Aether ab.

Das Verhalten gegen Bleioxyd, wie es die Darstellung ergiebt, ferner das Verhalten der gewonnenen öligen Säure gegen salpetrige Säure und die Zerlegung in Palmitinsäure und Essigsäure beim Schmelzen mit Aetzkali dienen zum Nachweis der Oelsäure.

Alkohole.

Aethylalkohol C_2H_5OH.

74. Spuren von Alkohol finden sich in den menschlichen Organen, wie Gehirn, Muskeln, Leber, nicht allein nach Alkoholgenuss, sondern

sie scheinen auch ohne letzteren stets vorhanden zu sein. Rajewski*) fand in ganz frischem Muskelfleisch und Gehirn von Kaninchen, Pferd und Rind, Leber vom Hunde bei Destillation mit Wasser im Destillat geringe mit Kalilauge und Jod durch Jodoformbildung nachweisbare Quantitäten und stellte aus frischem Pferdefleisch Alkohol dar, den er mit Platinmohr in Aldehyd und Essigsäure überführte. Béchamp fand gleichfalls Alkohol in der Leber. Die Eigenschaften des Aethylalkohol sind in jedem Lehrbuch der Chemie geschildert.

Um sehr geringe Mengen Alkohol aus thierischen Organen zu gewinnen, destillirt man die schnell zerkleinerten Organe mit Wasser, indem man nur die zuerst übergehenden Portionen auffängt, diese nochmals rectificirt, das zweite Destillat mit Kaliumcarbonat fast sättigt, abermals destillirt und nun vollständig mit dem Carbonat sättigt. Sind irgend wesentliche Quantitäten Alkohol vorhanden, so werden sie in Tropfen sich ausscheiden. Man destillirt dann, mögen ölige Tropfen aufgetreten sein oder nicht, wieder eine kleine Portion ab und prüft 1) einige Tropfen des Destillats mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure, 2) ein paar Tropfen nach Lieben's Methode mit Aetzkalilauge und etwas Jod. Ist Alkohol vorhanden, so giebt die erste Probe beim Sieden Grünfärbung, die zweite gelblichen Niederschlag von Jodoform, bestehend aus mikroskopischen regelmässig hexagonalen Täfelchen. Sind durch Kaliumcarbonat ölige Tropfen abgeschieden und diese durch Destillation abgetrennt, so kann man mit ihnen in einem Schälchen bei gutem Luftzutritt Platinmohr am Besten mit Asbest gemengt leicht benetzen und erhält alsbald den Geruch nach Aldehyd, wenn Alkohol zugegen ist. Extrahirt man dann mit etwas Wasser, fügt zur Lösung einen Tropfen Silbernitrat und erwärmt, so scheidet sich metallisches Silber aus. Lässt man die Tropfen des Destillats auf dem Platinmohr einige Zeit stehen, so werden sie stark sauer, filtrirt man dann, fügt ein Wenig Silberoxyd hinzu, erwärmt und filtrirt, so enthält die Lösung essigsaures Silber. Wenn diese Reactionen gelingen, kann über die Anwesenheit von Alkohol im ursprünglichen Destillate kein Zweifel sein, während die Jodoformbildung auch bei Behandlung von Aceton mit Kalilauge und Jod eintritt und die Reduction der Chromsäure durch sehr viele organische Stoffe geschieht.

---

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. XI. S. 122.

Cetylalkohol $C_{16}H_{33}OH$.

75. Im Wallrath, ebenso im Secret der Bürzeldrüse von Enten und Gänsen*) findet sich Cetylalkohol in Verbindung mit fetten Säuren, hauptsächlich mit Palmitinsäure. Man stellt ihn aus dem Rückstande des Aetherextractes dieser Substanzen durch Verseifung mit alkoholischer Kalilauge, Fällen des Alkohols mit Wasser und öfteres Umkrystallisiren aus Aether oder Eisessig dar.

Der reine Cetylalkohol krystallisirt in dünnen blätterigen Tafeln, die bei 50 bis 56,5 ⁰ schmelzen zu einer Flüssigkeit, welche beim starken Erhitzen unzersetzt destillirt. Er ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, Aether, Eisessig. Beim andauernden Erhitzen mit Säuren verbindet er sich mit denselben zu Aetherarten und geht mit Kalihydrat auf 220 bis 275 ⁰ erhitzt in Palmitinsäure über.

Aceton C_3H_6O.

76. In zahlreichen Fällen von Diabetes hat man Aceton in dem Destillat des Harns nachgewiesen und mit aller Wahrscheinlichkeit auch die Beimischung von Acetondampf in den Exspirationsgasen aufgefunden. Jaksch**) findet Aceton im Destillate jedes Harns, welcher sich mit Eisenchlorid roth färbt, vielfach auch von solchen, die diese Reaction nicht gaben; er fand Aceton stets im Harn von Fieberkranken.

Aceton bildet sich reichlich bei der trockenen Destillation von essigsaurem Kalk, von Holz, Zucker und Kalk, Citronensäure u. s. w., ferner durch Oxydation von Isopropylalkohol. Es ist eine mit Wasser, Alkohol oder Aether sich mischende Flüssigkeit von angenehmem, eigenthümlichen Geruch, siedet bei 58 ⁰ und hat spec. Gew. 0,814 bei 0 ⁰, verbindet sich mit sauren schwefeligsauren Alkalien zu krystallisirenden Verbindungen, wird durch Wasserstoff im Entstehungszustande zu Isopropylalkohol umgewandelt. Es entsteht aus Acetylessigäther durch Einwirkung starker Säuren oder Alkalien neben CO_2 und Alkohol, aus der Acetylessigsäure durch einfaches Erhitzen. Mit Jod und Kalilauge behandelt giebt es Jodoform.

Diese letzte Reaction geben selbst sehr geringe Spuren von Aceton

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. III. S. 225.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. VI. S. 541.

in Destillaten an, da sie aber auch mit Aethylalkohol und anderen flüchtigen Substanzen eintritt, genügt sie nicht zur Erkennung des Aceton. Man destillirt zur Erkennung von Aceton grosse Mengen vom diabetischen Harn u. s. w., säuert das Destillat mit Schwefelsäure an, destillirt noch mehrmals und fängt stets nur den zuerst übergehenden Theil in stark gekühlter Vorlage auf, sättigt dann das Destillat mit Chlorcalcium, destillirt die noch bleibende Flüssigkeit ab, prüft das Uebergehende auf den Siedepunkt, ferner mit saurem schwefeligsaurem Natron, mit Jod und Kalilauge. Hinsichtlich des genauen Nachweises auch selbst annähernder quantitativer Bestimmung vergl. v. Jaksch, a. a. O.

Acetessigsäure $C_4H_6O_3$.

77. Von Gerhardt wurde zuerst beobachtet, dass diabetische Harne, welche bei der Destillation Aceton geben, mit Eisenchlorid eine eigenthümliche violett-rothe Farbe annehmen, wie sie auch Lösungen von Acetessigsäureäther geben. Man nahm hiernach an, dass in diesen Harnen der genannte Aether enthalten sei, welcher beim Erhitzen mit Alkalien unter Bildung von Aceton, Alkohol und CO_2 zerfällt. Die neuesten Untersuchungen über diese Frage von Tollens und Deichmüller*) haben aber ergeben, dass bei der Zerlegung dieses mit Eisenchlorid sich roth färbenden Körpers nur Aceton und CO_2 und kein Alkohol entsteht, dass sonach wahrscheinlich die im freien Zustande noch nicht bekannte Acetessigsäure und nicht ihr Aethyläther im Harn enthalten ist. Die Zerlegung wäre dann zu betrachten nach der Gleichung $CH_3\text{-}CO\text{-}CH_2\text{-}COOH = CO_2 + CH_3\text{-}CO\text{-}CH_3$. Die Substanz, welche mit Eisenchlorid sich roth färbt, geht beim Schütteln des Harns mit Aether in letzteren erst nach starkem Ansäuern über und zersetzt sich beim Verdunsten des Aethers vollständig, während der Aether der Säure beständiger ist. In einem untersuchten diabetischen Harn schätzten Tollens und Deichmüller den Gehalt an dieser Säure nach dem erhaltenen Aceton zu 0,15—0,22 pCt.

Milchsäuren $C_3H_6O_3$.

78. Es sind 3 verschiedene Säuren von der Zusammensetzung $C_2H_4(OH), CO_2(H)$ bekannt**), von denen die eine, Hydracrylsäure,

*) Liebig's Annal. Bd. 209. S. 22 u. 30.

**) Erlenmeyer, Liebig's Annal. Bd. 191. S. 261.

künstlich aus β-Jodpropionsäure dargestellt, noch nicht in Organismen gefunden ist und durch ihre leichte Rückverwandlung mittelst JH in die Jodpropionsäure, sowie durch ihre Zersetzung in Acrylsäure und Wasser bei der trockenen Destillation von den übrigen scharf unterschieden ist. Von den 2 übrigen eigentlichen Milchsäuren ist die bekannteste

1) Die Gährungsmilchsäure oder Aethylidenmilchsäure, welche sich bei dem Sauerwerden der Milch aus Milchzucker durch Gährung, auch bei der Gährung des Sauerkohls, der Gurken etc. bildet, synthetisch aus Aldehyd, Blausäure und Salzsäure, durch Einwirkung von salpetriger Säure auf Alanin, durch Behandlung von α-Jodpropionsäure mit Silberoxyd, oder von Brenztraubensäure mit Wasserstoff im Entstehungszustand, beim Erhitzen von Frucht- oder Traubenzucker mit mässig verdünnter Alkalilauge, endlich durch Fäulniss aus Aepfelsäure, Glycerin entsteht.

Sie findet sich häufig, wenn nicht constant, im Magen- und Darminhalt von Menschen und Säugethieren, nach Heintz auch in den Muskeln*), nach Gscheidlen in der grauen Substanz des Gehirns, nach Salomon im menschlichen Leichenblute, nicht im Aderlassblute.

Zur Darstellung der Gährungsmilchsäure versetzt man Rohrzuckerlösung mit saurer Milch und Zinkoxyd und lässt unter öfterem Umrühren bei warmer Temperatur einige Zeit stehen. Die abgesetzten Krusten von milchsaurem Zink werden in heissem Wasser gelöst, filtrirt und aus der noch heissen Lösung durch Schwefelwasserstoff das Zink niedergeschlagen, wieder filtrirt, die Lösung auf dem Wasserbade verdunstet und aus dem syrupartigen Rückstande die freie Milchsäure durch Schütteln mit Aether in diesen aufgenommen und aus der ätherischen Lösung durch Abdestilliren des Aethers gewonnen.

2) Die Fleischmilchsäure oder Paramilchsäure wird aus den Muskeln erhalten, ist daher wesentlicher Bestandtheil des Liebigschen Fleischextractes; Strecker fand sie in der Galle, Schultzen reichlich in dem Harne von Menschen und Thieren bei Phosphorvergiftung. Aus pathologischen Transsudaten wird sie oft reichlich gewonnen. Die bei Osteomalacie in den Knochen, beim Puerperalfieber im Schweisse gefundene Milchsäure ist wahrscheinlich gleichfalls Paramilchsäure. Synthetisch ist sie noch nicht dargestellt.

---

*) Heintz, Ann Chem. Pharm. Bd. 157. S. 320.

In den meisten Fällen, besonders wenn es sich darum handelt, die Fleischmilchsäure aus den Muskeln, Galle oder pathologischen Flüssigkeiten auch möglichst vollständig zu gewinnen, wird es am Gerathensten sein, das folgende Verfahren zu benutzen. Das Fleisch wird zerkleinert, mit kaltem Wasser mehrmals extrahirt, abfiltrirt und ausgepresst, das Extract oder die sonst zur Darstellung benutzte und wenn nöthig vorher mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuerte Flüssigkeit durch Kochen und Filtration von Eiweissstoffen befreit, mit Aetzbaryt versetzt so lange Niederschlag erfolgt, nach Ausfällen des überschüssigen Baryt durch einen Kohlensäurestrom zum dünnen Syrup eingedampft bei zuletzt mässiger Temperatur (nicht über 70°), um Braunfärbung zu vermeiden. Der Syrup wird mit absolutem Alkohol gemischt, allmälig mehr und mehr Alkohol hinzugefügt bis mindestens zum 10fachen Volumen des Syrup, gut umgerührt, kurze Zeit stehen gelassen, dann abgegossen, der Rückstand in wenig Wasser wieder gelöst und abermals mit Alkohol in gleicher Weise behandelt.

Von der abgegossenen und filtrirten alkoholischen Lösung wird der Alkohol abdestillirt und der dünne syrupöse Rückstand auf dem Wasserbade bei mässiger Wärme zur Entfernung des Alkohol digerirt. Nach dem Erkalten fügt man zum rückständigen dicklichen Syrup ungefähr das gleiche Volumen einer erkalteten Mischung von 1 Vol. Schwefelsäure und 2 Vol. Wasser, bringt diese Mischung in eine grosse Flasche und schüttelt darin mit grossen Mengen Aether, welche die Milchsäure bei häufiger Erneuerung der aufgegossenen Aethermengen allmälig vollständig, zugleich aber auch etwas Schwefelsäure und Salzsäure (aus dem KCl der Organe) aufnehmen.

Die klar abgegossenen Aetherauszüge werden dann mit etwas feinpulverigem Zinkcarbonat versetzt und unter öfterem Umschütteln 24 Stunden stehen gelassen, dann der Aether abdestillirt, der Rückstand vereinigt mit dem vorher erhaltenen Zinkniederschlag mit noch mehr Zinkcarbonat versetzt, Wasser hinzugefügt, einige Zeit im Sieden erhalten, dann heiss filtrirt und ausgewaschen. In die heisse wässerige Lösung wird Schwefelwasserstoff im anhaltenden Strome eingeleitet, heiss filtrirt und das Filtrat wieder mit Schwefelwasserstoff behandelt, bis derselbe keinen Niederschlag mehr giebt. Dann wird die klare etwas Zinksulfat und Chlorzink neben freier Milchsäure enthaltende Lösung auf dem Wasserbade zum Syrup eingedampft, der erkaltete Syrup abermals in Aether gelöst, vom bleibenden Rück-

stande abgegossen und nach Abdestilliren des Aethers die reine Fleischmilchsäure gewonnen.

Um sich zu überzeugen, dass die Säure frei von Salzsäure ist, schüttelt man eine Portion derselben mit etwas frisch gefällten und gut gewaschenen Silberoxyd bei möglichster Abhaltung des Lichtes. Löst sich das Silber nicht klar, sondern giebt es weissen Niederschlag, so behandelt man die ganze dargestellte Quantität der Säure nach genügendem Wasserzusatz mit kleinen Portionen Silberoxyd, filtrirt alsbald das Chlorsilber ab, entfernt dann sogleich durch Schwefelwasserstoff das Silber aus dem Filtrate und dampft zum Syrup ein oder sättigt mit Zink- oder Calciumcarbonat, wenn es sich um quantitative Bestimmung handelt, kocht damit, filtrirt den Ueberschuss des Carbonats ab, dampft zum kleinen Volumen ein und lässt krystallisiren.

Dies Verfahren zur Darstellung oder Bestimmung ist für die Gährungsmilchsäure ebenso anwendbar wie für die Fleischmilchsäure.

Die beiden Milchsäuren stellen syrupöse Flüssigkeiten dar, welche bei längerem Erhitzen und selbst beim Stehen über Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur allmälig Wasser verlieren. Sie mischen sich in allen Verhältnissen mit Wasser, Alkohol, Aether, besitzen stark saure Reaction und rein sauren Geschmack, verflüchtigen sich beim Kochen ihrer Lösungen nicht unerheblich mit den Wasserdämpfen, sind einbasische Säuren und zugleich einsäurige Alkohole, bilden mit Metallen wohl charakterisirte neutrale Salze, von denen die Alkalisalze sehr leicht löslich und schwer krystallisirt zu erhalten sind. Die Calcium- und Zinkverbindungen sind hauptsächlich untersucht und von besonderer Wichtigkeit, weil auf ihrer Verschiedenheit die Unterscheidung der beiden Milchsäuren vor Allem beruht. Die Bleiverbindungen sind im Wasser leicht löslich.

Die Gährungsmilchsäure ist optisch inactiv, die Fleischmilchsäure giebt eine Rechtsdrehung der Polarisationsebene, die sehr abhängig ist von der Concentration. Das Zinksalz in wässeriger Lösung zeigt $(\alpha)_D = - 7{,}65$ für krystallisirtes Salz.

Das Zinksalz der Gährungsmilchsäure krystallisirt mit 18,18 pCt. H_2O und entspricht dann der Formel $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3H_2O$. Ein Theil desselben löst sich bei 14—15° in 58—63 Theilen Wasser und ist in Alkohol unlöslich. Das fleischmilchsaure Zink $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2H_2O$ enthält nur 12,9 pCt. H_2O, ein Theil Salz löst sich in 17,5 Theilen Wasser oder 1109 Theilen Alkohol bei 14—15°. Das Kalksalz der

Fleischmilchsäure $(C_3H_5O_3)_2Ca + 4^1/_2H_2O$ ist gleichfalls verschieden durch Krystallwassergehalt und Löslichkeit vom gährungsmilchsauren Kalk $(C_3H_5O_3)_2Ca + 5H_2O$, aber beide krystallisiren in blumenkohlähnlichen Kugeln von feinen mikroskopischen Nadeln. Die Barytsalze krystallisiren nicht.

Gährungs- und Paramilchsäure geben beim Erhitzen mit mässig verdünnter Schwefelsäure Aldehyd und Ameisensäure. Längere Zeit auf 150° im trocknen Luftstrome erhitzt gehen Gährungs- und Paramilchsäure in Laktid über, welches in Nadeln sich verdichtet und beim Kochen mit Wasser und kohlensaurem Zink in optisch inactive Gährungsmilchsäure übergeht; man kann also auf diesem von Strecker gefundenen Wege Paramilchsäure in Gährungsmilchsäure überführen. Laktid aus beiden Milchsäuren hat den Schmelzpunkt 124,5°. Hydracrylsäure zerfällt beim Erhitzen in Wasser und Acrylsäure. Bei der Einwirkung von Natronlauge auf Traubenzucker wird Milchsäure erhalten, welche theilweise ein schwer lösliches, theilweise ein leichtlösliches Zinksalz liefert, beide Salze enthalten jedoch 18 pCt. Krystallwasser.

Der Nachweis der Milchsäuren und ihre Trennung sowohl von anderen Stoffen als von einander beruht auf den geschilderten Darstellungsmethoden und den beschriebenen Unterschieden der Löslichkeit in Wasser und in Alkohol und des Krystallwassergehaltes ihrer Zinksalze, der circumpolarisirenden Eigenschaft der einen und den verschiedenen Oxydationsproducten. Die Leichtlöslichkeit ihrer Baryt- und Bleisalze lässt eine leichte Trennung von den meisten anderen organischen Säuren zu.

Oxalsäure $C_2H_2O_4$.

79. Die Oxalsäure ist bei Menschen und höheren Thieren bis jetzt nur als ungelöstes Kalksalz gefunden worden, und zwar kommt dies letztere fast ausschliesslich in den Harnsedimenten vor. Im Harne des Menschen, der Pferde, Schweine, Kaninchen ist fast stets etwas oxalsaurer Kalk zu finden, häufig bildet dieses Salz feste Concremente im Nierenbecken oder der Harnblase des Menschen, auch bei Schweinen, oder es nimmt nur Theil an der Bildung dieser Steine. Reichlich tritt der oxalsaure Kalk im menschlichen Harn bei gewissen chronischen Katarrhen der Harnblase, auch anderer Schleimhäute auf. In der Gallenblase oder den Fäces ist seltener oxalsaurer Kalk gefunden.

Der oxalsaure Kalk $C_2CaO_4 + H_2O$, das neutrale Salz der zweibasischen Oxalsäure, bildet sehr harte, meist mikroskopische Krystalle in der Form tetragonaler Octaëder, deren eine Axe etwas kürzer ist als die beiden anderen; die Krystalle sind stets farblos, Ecken und Kanten scharf ausgebildet. Zuweilen erscheint das Salz in der Form mikroskopischer rundlicher Knollen und Dumbbells. Das Salz ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, ebenso unlöslich in Ammoniak, kohlensauren Alkalien, fast ganz unlöslich in Essigsäure, löslich in verdünnten oder concentrirten Milchsäuren, auch in Lösungen von phosphorsaurem oder harnsaurem Natron ist der oxalsaure Kalk etwas löslich. In Salzsäure gelöst giebt der oxalsaure Kalk beim Verdunsten der Lösung ein Doppelsalz von Chlorcalcium mit oxalsaurem Kalke, welches in grossen rhombischen Tafeln krystallisirt und sich beim Zusatz von Wasser zerlegt.

Beim starken Erhitzen wird oxalsaurer Kalk ohne Verkohlung in kohlensauren Kalk verwandelt.

Zum Nachweise des oxalsauren Kalkes muss man sich meist mit der mikroskopischen Untersuchung begnügen. Im Harne findet man ihn auch bei stark saurer Reaction, wenn man denselben einige Zeit stehen lässt und das vielleicht kaum erkennbare Sediment, oft nur eine schleimige Nebecula, unter das Mikroskop bringt. Die Krystalle vergrössern und vermehren sich dann gewöhnlich beim Stehen des Harnes für einige Tage. Die Form der Krystalle, ihre Unlöslichkeit in Ammoniak, in Essigsäure, Löslichkeit in Salzsäure dienen dann zur Erkennung. In Concrementen weist man den oxalsauren Kalk durch Lösen in verdünnter Salzsäure, Fällen der abfiltrirten Lösung mit Ammoniak, Abfiltriren und Behandlung des Niederschlages mit Essigsäure nach. Den in Essigsäure unlöslichen körnigen oder feinpulverigen Niederschlag trocknet man, bringt ihn auf Platinblech, glüht schwach und prüft nach dem Erkalten, ob der Rückstand in Säuren, auch in Essigsäure, unter Aufbrausen löslich ist und die Lösung durch oxalsaures Ammoniak gefällt wird. Findet sich somit in diesem Glührückstande kohlensaurer Kalk, so war oxalsaurer Kalk in der zu prüfenden Substanz.

Bernsteinsäure $C_4H_6O_4$.

80. Die Bernsteinsäure ist in geringen Quantitäten in sehr vielen thierischen Flüssigkeiten gefunden, stets reichlich in der Echino-

coccenflüssigkeit, dann im Safte verschiedener Organe als Milz, Thymus, Thyreoidea, in Hydrocephalus- und Hydroceleflüssigkeit, von Brieger im jauchigen Eiter, endlich von Meissner im Blute, Speichel, Harn, und zwar in letzterem bei Hunden ziemlich reichlich bei Fett- und Fleischnahrung, im Kaninchenharne bei Mohrrübenfütterung oder Eingeben von äpfelsaurem Kalk, im Speichel von Hunden sowie im Harne reichlich nach Eingeben von benzoësaurem Natron, nach Hilger im Harne reichlich nach Einnahme von asparaginsäurehaltigen Nahrungsmitteln; die meisten dieser Angaben sind später nicht bestätigt.

Die Bernsteinsäure bildet farblose vierseitige Nadeln oder sechsseitige Tafeln, die bei 180° schmelzen zu einer Flüssigkeit, die bei 235° unter theilweiser Zersetzung zu Anhydrid und Wasser siedet. Schon bei 120° entwickeln sich Nebel beim Erhitzen der Säure, welche eingeathmet heftig zum Husten reizen, eigenthümlich schmecken und riechen. 1 Theil Bernsteinsäure löst sich in 23 Theilen kaltem Wasser, leichter in heissem, weniger leicht in Alkohol, sehr wenig in Aether. Durch Salpetersäure wird sie nicht zersetzt, mit Kalihydrat erhitzt giebt sie Oxalsäure, mit Braunstein und Schwefelsäure Essigsäure. Bei Anwesenheit eines Uransalzes zerfällt sie in wässeriger Lösung, dem directen Sonnenlichte ausgesetzt, in Propionsäure und Kohlensäure.

Bernsteinsaure Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich, in Alkohol unlöslich, ebenso in Aether. Kalk- und Barytsalz sind in Wasser schwer, Magnesia- und Manganoxydulsalz leicht löslich. Eisenchlorid bringt in neutralen Lösungen bernsteinsaurer Salze einen in Wasser unlöslichen braunen flockigen Niederschlag hervor.

Zur Trennung der Bernsteinsäure von anderen Stoffen wandte man früher hauptsächlich die Extraction des Verdampfungsrückstandes der Flüssigkeiten mit Salzsäure und Aether an. Aus den zahlreichen Untersuchungen Meissner's*) über das Vorkommen der Bernsteinsäure in thierischen Flüssigkeiten schien hervorzugehen, dass besonders die Unlöslichkeit bernsteinsaurer Alkalien in absolutem Alkohol zur Trennung von den meisten ähnlichen Körpern benutzt werden könnte, während die leichte Löslichkeit derselben in Wasser sie von harnsauren Salzen gut trennen liesse. Aus dem Blute gewinnt

*) Meissner und Jolly, „Ueber das Entstehen von Bernsteinsäure im thierischen Stoffwechsel". Zeitschr. f. rat. Med. (3). Bd. 24. S. 97.

**) Meissner und Shepard, „Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure im thierischen Organismus. Hannover 1866."

man sie hiernach durch Coagulation des mit Wasser verdünnten Blutes durch Sieden unter vorsichtigem Ansäuern mit verdünnter Salzsäure. Das klare farblose Filtrat wird mit Kali möglichst genau neutralisirt auf dem Wasserbade eingeengt, bis dasselbe dickflüssig zu werden beginnt, dann mit absolutem Alkohol vollständig ausgefällt, nach dem Erkalten filtrirt. Der Niederschlag in Wasser gelöst, filtrirt und eingeengt kann Krystalle von bernsteinsaurem Alkali liefern; mittelst eines mit Salzsäure versetzten Gemisches gleicher Theile Alkohol und Aether kann dann durch Schütteln mit der eingeengten wässerigen Lösung die freie Bernsteinsäure aufgenommen, durch Verdunsten der abfiltrirten Lösung dargestellt und bezüglich der mikroskopischen Form der Krystalle, ihres Verhaltens beim Erhitzen, der Eigenschaften des mittelst Kochen mit Wasser und kohlensaurem Kalk erhaltenen Kalksalzes, dessen Lösung heiss filtrirt beim Abdampfen Krystalle liefert, der Fällung der neutralen Alkalisalze oder des durch Kochen der wässerigen Lösung der Säure mit kohlensaurer Magnesia erhaltenen neutralen Magnesiasalzes in wässeriger Lösung durch Eisenchlorid u. s. w. untersucht werden. Neubauer empfiehlt die beim Verdunsten des sauren Aetherextractes erhaltene Säure in Wasser gelöst und zum Kochen erhitzt tropfenweise mit Salpetersäure zu versetzen, bis nur noch gelbe Färbung vorhanden ist, dann zur Krystallisation einzudampfen.

Im Harne fand Meissner die Bernsteinsäure nach folgender Methode: Der Harn wird mit Barytwasser gefällt, so lange Niederschlag entsteht, im Filtrate mit Schwefelsäure der Barytüberschuss möglichst genau ohne Ueberschuss der Schwefelsäure entfernt, die filtrirte alkalische Flüssigkeit dann bis zur beginnenden Harnstoffkrystallisation abgedampft, von abgeschiedenen harnsauren Salzen abfiltrirt und diese Flüssigkeit mit absolutem Alkohol versetzt, so lange noch Niederschlag entsteht. Der klebrige Niederschlag wird aus Wasser umkrystallisirt. Das bernsteinsaure Natron bildet dann charakteristische Krystalle. Aus diesem Salze kann die Bernsteinsäure durch Schwefelsäure abgeschieden, durch ihre Krystalle, Flüchtigkeit und oben angegebene chemische Eigenschaft weiter erkannt werden. Im Uebrigen sind die Originalarbeiten von Meissner nachzusehen. Salkowski*) konnte weder die Angaben Meissner's bezüglich des Vorkommens der Bernsteinsäure im Harn bestätigen, noch seiner Me-

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 2. S. 367 u. Bd. 4. S. 95.

thode einen Vorzug vor der älteren (Trennung der Bernsteinsäure durch Schütteln der abgedampften Salzmasse mit Aether und Salzsäure) einräumen.

Glutarsäure $C_5H_8O_4$.

Die Glutarsäure oder normale Pyroweinsäure ist von Brieger*) neben Bernsteinsäure im jauchigen Eiter gefunden. Diese Säure ist synthetisch aus Cyanpropylen, ferner durch Reduction aus Glutansäure oder Glutaminsäure dargestellt, bildet grosse flache Tafeln, leicht löslich in Wasser, schmilzt bei 97°, siedet bei 302° fast ohne Zersetzung. Das Calciumsalz $C_5H_6O_4Ca + 2H_2O$ löst sich leicht in kaltem, schwer in heissem Wasser, krystallisirt schwer, das Zinksalz löst sich bei 18° in 102 Thl. Wasser, in heissem Wasser noch schwerer.

Brieger säuerte jauchigen Eiter mit Schwefelsäure stark an und schüttelte mit Aether aus, entfernte dann durch Baryt die Schwefelsäure, versetzte das Filtrat mit Bleiessig, filtrirte, entfernte das Blei durch SH_2, engte dann die Flüssigkeit auf dem Wasserbade ein, behandelte mit Barytwasser, entfernte den Bariumüberschuss durch Kohlensäure, und erhielt aus dem Filtrat Barytsalz, welches mehrmals mit Schwefelsäure zersetzt und wieder gebildet und hierbei gereinigt wurde. Die freigemachten Säuren mit Thierkohle entfärbt, wurden dann in die Kalksalze verwandelt und durch Krystallisation bernsteinsaurer und glutarsaurer Kalk getrennt. Die freigemachte Glutarsäure schmolz bei 98° und war unzersetzt flüchtig.

Glycerin $C_3H_8O_3$.

81. Das Glycerin, welches im freien Zustande wohl nur in Spuren im Inhalte des Dünndarmes durch Einwirkung des pancreatischen Saftes auf Fette sich bilden mag, ist an Oelsäure und mehrere fette Säuren der Reihe $C_nH_{2n}O_2$ gebunden der allgemeinste Bestandtheil der Fette thierischen und pflanzlichen Ursprungs. Es bildet sich auch in geringer Quantität bei der alkoholischen Gährung des Traubenzuckers. Aus den Fetten wird es durch Verseifung gewonnen, durch Behandlung mit Bleioxyd in wässeriger Lösung von fetten Säuren gereinigt, durch Schwefelwasserstoff von Blei befreit und die Lösung eingedampft, bis die Temperatur der Flüssigkeit 160° erreicht hat.

Das Glycerin stellt in reinem Zustande eine farblose, geruchlose, süss schmeckende, sehr hygroskopische, in Wasser oder Alkohol in jedem Verhältnisse lösliche, syrupöse Flüssigkeit dar. Seine Lösungen sind ohne Reaction auf Lackmus. Das Glycerin ist ein dreiatomiger Alkohol, kann also mit 1, 2 oder 3 Atomen einbasischer Säuren sich zu Aethern verbinden und auch Verbindungen mit Metallen oder Alkoholen eingehen. Man nennt die Verbin-

*) Zeitschr. f physiol. Chem. Bd. V. S. 366.

dungen des Glycerins mit Säuren Glyceride, zu diesen gehören auch die Fette.

Das Glycerin lässt sich im luftleeren Raume bei 275—280° unzersetzt destilliren, verflüchtigt sich in geringer Menge schon beim Kochen seiner wässerigen Lösung mit den Wasserdämpfen. Es löst Kupferoxyd, Bleioxyd und andere Metalloxyde auf, auch fette Säuren, wie Palmitinsäure, Stearinsäure, Oelsäure sind darin etwas löslich. Erhitzt man trockenes Glycerin mit trockenen, organischen, einbasischen Säuren auf 200° im Glasrohre eingeschlossen oder besser nicht eingeschmolzen (nöthigenfalls am Rückflusskühler) längere Zeit, so verbinden sie sich unter Austritt von Wasser theilweise mit einander. Auf diese Weise können die natürlich vorkommenden Fette künstlich erhalten werden.

Verdünnte wässerige Lösungen des Glycerins mit Bierhefe längere Zeit bei 20—30° stehen gelassen, geben Zerlegung des Glycerins unter Bildung von Propionsäure. Erhitzt man Glycerin mit wasserfreier Phosphorsäure oder saurem schwefelsauren Kali, so bildet sich durch Zerlegung des Glycerins Wasser und Acroleïn oder Acrol C_2H_4O, eine äusserst stechend riechende, leicht flüchtige und sich an der Luft schnell oxydirende Flüssigkeit, welche auch Silberlösung schnell reducirt. Diese Zersetzungsweise, welche dem Glycerin eigenthümlich ist, dient neben dem Verhalten gegen Basen, neben dem süssen Geschmacke und der grossen Löslichkeit in Wasser oder Alkohol zur Erkennung des Glycerins. Beim Schmelzen mit Aetzalkali bildet das Glycerin zunächst Wasserstoff und Milchsäure, ebenso bei Fäulniss, durch weitere Einwirkung auf die Milchsäure entstehen dann Buttersäure, Essigsäure, Ameisensäure.

Fette.

82. Die Fette finden sich bei Menschen und Thieren fast in allen Flüssigkeiten, nur nicht im Harne, in geringer Menge gelöst oder fein zertheilt, wie im Chylus, reichlich besonders in der Milch, dem Hauttalge und dem Chylus bei Fettfütterung. In den Geweben findet sich Ablagerung von Fetten in den Fettzellen physiologisch in bestimmter Verbreitung und pathologisch kann fettige Infiltration jedes Organ betreffen. Die Fette, welche bei diesen letzteren pathologischen Processen abgelagert werden, sind keine anderen als die, welche wir im normalen Zustande im panniculus adiposus u. s. w.

von Menschen und Thieren und ebenso in den verschiedensten Früchten von Pflanzen finden.

Von den Fetten sind einige flüssig, andere krystallisirt bei gewöhnlicher Temperatur, sie sind nicht unzersetzt flüchtig beim Erhitzen, unlöslich in Wasser, meist auch ziemlich unlöslich in kaltem, leicht löslich in kochendem Weingeiste, alle lösen sich leicht in Aether, Chloroform und flüchtigen Oelen, sie lösen sich auch gegenseitig auf, so stellen die gewöhnlichen Oele, als Olivenöl, eine Lösung von Stearin und Palmitin in Oleïn dar. Die Fette reagiren neutral gegen Lackmus, sind an sich farb- und geschmacklos, lösen viele Farbstoffe auf und erscheinen im thierischen Körper wohl immer gelb gefärbt.

Die natürlich in Thieren vorkommenden Fette sind wie das Glycerin selbst ohne Einwirkung auf polarisirtes Licht. Etwas löslich sind Fette auch in Seifen-, in Eiweiss- oder Leimlösungen und besonders in Flüssigkeiten, welche Gallensäuren enthalten. Schüttelt man flüssige Fette mit schleimigen oder Eiweisslösungen, so gehen sie in feine Zertheilung über, aus welcher sie nur langsam sich wieder zu einer Masse vereinigen (Emulsion). Durch Kochen mit Wasser werden die Fette kaum angegriffen, dagegen werden sie durch Kochen mit Aetzalkalilauge besonders in alkoholischer Lösung schnell verseift, d. h. in Glycerin und fette Säuren zerlegt, dieselbe Zerlegung bewirkt concentrirte Schwefelsäure oder Wasserdampf in das auf 220° erhitzte Fett eingeleitet. Beim Stehen der Fette in Berührung mit atmosphärischer Luft, Wasser und Metallen oder Eiweissstoffen werden sie allmälig zerlegt, sie werden ranzig, wie man sagt, indem sich leicht flüchtige fette Säuren bilden. Erhitzt man Fette auf sehr hohe Temperatur, so gehen fette Säuren und Acroleïn über, dessen Nase und Augen stark reizende Dämpfe sich schon in geringen Mengen leicht kenntlich machen.

Die wichtigsten natürlich vorkommenden Fette sind das Stearin, Palmitin und Oleïn.

Stearin oder Tristearin $C_{57}H_{110}O_6$ oder $C_3H_5(C_{18}H_{35}O_2)_3$.

83. Das Stearin, bestehend aus 3 Atomen Stearinsäure und 1 Atom Glycerin weniger 3 Mol. Wasser, ist das festeste, am Schwersten schmelzbare unter den bekannteren Fetten. Es ist in heissem Alkohol oder Aether schwerer löslich als die übrigen Fette und wird beim Erkalten jener Lösungen zuerst ausgeschieden, gewöhnlich in

rectangulären Tafeln, seltener in rhombischen Prismen. Der eigentliche Schmelzpunkt soll 63° sein, er wechselt jedoch je nach der Behandlung, welche das Stearin vorher erfahren hat, zwischen 53° und 66°, ebenso wird es je nach der Intensität der vorhergehenden Erhitzung bei 51° oder schon bei 61° wieder fest.

Palmitin oder Tripalmitin $C_{51}H_{98}O_6$ oder $C_3H_5(C_{16}H_{31}O_2)_3$.

Das Palmitin ist wenig löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Alkohol oder Aether. Beim Erkalten der heiss gesättigten Lösung scheiden sich feine Nadeln von Palmitin aus. Ist es mit Stearin gemischt, so scheiden sich aus den heissen Lösungen beim Erkalten Gemische (oder Verbindungen) von Palmitin und Stearin in Kugeln aus, welche aus radial um einen Punkt gestellten Blättchen oder Nadeln, die oft grashalmartig gewunden erscheinen, bestehen. Diese Gemenge hielt man früher für ein besonderes Fett, welches Margarin genannt wurde. Wie das Stearin, so hat auch das Palmitin verschiedene Schmelz- und Erstarrungspunkte, je nachdem es vorher behandelt war. 46°, 62°, 63° sind als Schmelzpunkte, 45° als Erstarrungspunkt angegeben.

Oleïn (Trioleïn) $C_{57}H_{104}O_6$ oder $C_3H_5(C_{18}H_{33}O_2)_3$.

In reinem Zustande ein farbloses, flüssiges Oel bei gewöhnlicher Temperatur. Es oxydirt sich leicht an feuchter Luft und färbt sich dabei gelb, ist leicht löslich in absolutem Alkohol oder Aether, weniger in kaltem Weingeiste. Das Oleïn löst Stearin und Palmitin reichlich auf und stellt in dieser Mischung die Hauptmasse der natürlichen Fette dar. Bei der trockenen Destillation giebt es ausser den Producten, welche auch andere Fette liefern, noch Sebacylsäure (Fettsäure).

Butyrin, Capronin, Caprylin und die anderen derartigen Fette sind noch nicht hinreichend untersucht und man hat keine Methode, sie von den übrigen Fetten ohne Zerlegung zu trennen.

Trennung der Fette von anderen Körpern und Nachweis derselben.

84. Wegen ihrer Nichtflüchtigkeit, Unlöslichkeit in Wasser, Leichtlöslichkeit in Aether ist es im Ganzen nicht schwierig, die Fette von anderen Stoffen zu trennen.

In Flüssigkeiten suspendirte Fette kann man durch Schütteln der Flüssigkeiten mit Aether aufnehmen, aus Emulsionen, z. B. Milch, erhält man sie auf gleiche Weise, nachdem man der Emulsion etwas Natronlauge zugefügt hat. Die in den Flüssigkeiten gelösten Fette sowie die in Gewebstheilen eingeschlossenen erhält man am Einfachsten, indem man die Flüssigkeit oder Gewebe auf dem Wasserbade trocknet, den Rückstand fein pulverisirt, mit Aether auszieht und das Ungelöste noch mit Alkohol auskocht. Das Alkoholextract wird heiss filtrirt, auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand mit Aether ausgezogen. Die durch Verdunsten der Aetherauszüge erhaltenen Massen können ausser den Fetten noch fette Säuren, Lecithin und Cholesterin enthalten, auch Farbstoffe können sich darin befinden. Um die freien Säuren von den Fetten zu trennen, ist es zweckmässig, den Aetherrückstand mit mässig verdünnter Lösung von kohlensaurem Natron, welches nicht verseifend auf die Fette wirkt, einige Zeit zu erwärmen, dann zur Trockne abzudampfen, in etwas Wasser zu lösen und diese Lösung mit Aether zu schütteln. Fette und Cholesterin gehen in Lösung über. Um diese von einander zu trennen, kann man das Aetherextract der freiwilligen Verdunstung überlassen und nach dem Auskrystallisiren von Cholesterin abgiessen, doch gelingt diese Trennung nur unvollkommen. Besser gelingt der Nachweis, wenn man das Gemisch von Fetten und Cholesterin mit alkoholischer Kalilauge einige Zeit auf dem Wasserbade im Sieden erhält, dann den Alkohol durch Verdunsten verjagt, die rückständige Flüssigkeit mit Wasser sehr verdünnt und mit Aether schüttelt; das dann abgegossene Aetherextract enthält nur Cholesterin, wenn mit Wasser genügend verdünnt war. Durch Waschen mit wässrigem kalten Alkohol kann die letzte Spur Seife aus dem Rückstand des Aetherauszugs entfernt werden.

Die Seifenlösung wird, ohne den letzten Rest des Aethers zu entfernen, mit verdünnter Schwefelsäure gut angesäuert und nun auf dem Wasserbade bis zum Verdunsten des Aethers erwärmt, die ausgeschiedenen Fettsäuren durch Filtration entfernt, das Filtrat mit Ammoniak neutralisirt, auf dem Wasserbade zu sehr kleinem Volumen eingedampft und mit Alkohol ausgezogen. Das filtrirte Alkoholextract enthält das Glycerin und Spuren von den schwefelsauren Salzen, die man durch Zusammenreiben des Verdampfungs-Rückstandes mit Bleioxyd, Ausziehen der Masse mit etwas Wasser, Fällen mit Schwefelwasserstoff, Filtriren und Eindampfen zum Syrup trennen kann.

Das zurückbleibende Glycerin wird durch den Geschmack, Lösung von Kupferoxydhydrat in demselben und die Bildung von Acroleïn beim Erhitzen mit wasserfreier Phosphorsäure charakterisirt.

Die oben durch Fällung mit Schwefelsäure aus der Seifenlösung isolirten fetten Säuren werden nach den §§ 72 und 73 angegebenen Methoden von einander getrennt und näher bestimmt.

Die auf obige Weise dargestellten Aetherextracte enthalten fast immer Lecithin, selten Calcium- oder Magnesiumsalze fetter Säuren (Faeces). Lecithin zersetzt sich beim Trocknen des Rückstandes über 70° und giebt bei der Verseifung mit alkoholischer Kalilauge Glycerinphosphorsäure. Der Phosphorgehalt des Aetherextractrückstandes nach § 61 ermittelt, ergiebt den Gehalt an Lecithin.

Trennung und Nachweis der einzelnen Fette.

85. So wenig man eine genügende Methode besitzt, Cholesterin von den unzersetzten Fetten vollkommen zu trennen, so wenig ist man auch im Stande, eine Trennung der einzelnen Fette von einander vorzunehmen, ohne dass man sie verseift.

Eine für manche Zwecke genügende Trennung erhält man, wenn man die Fette einige Zeit bei einer Temperatur erhält, bei der ein Theil des gelösten Stearin und Palmitin auskrystallisirt, diese Temperatur würde für Butter etwa 20°, für Leberthran, Knochenöl etwa 0° sein, und so für jedes Fett verschieden. Man filtrirt durch Papier das flüssige Oel ab und presst die ausgeschiedenen Krystallmassen aus und lässt nun das Oel bei einer niederen Temperatur stehen, bei welcher wieder ein Theil sich ausscheidet, filtrirt u. s. w. Spült man die ausgepresste Krystallmasse mit kaltem Alkohol ab, so erhält man von Oleïn ziemlich freie Gemische von Stearin und Palmitin, und löst man diese in viel heissem Alkohol und lässt allmälig erkalten, so scheidet sich zuerst Stearin, dann dies mit Palmitin gemischt, zuletzt nur Palmitin mit Spuren von Oleïn aus.

Zur genaueren Untersuchung der Fette auf die in ihnen enthaltenen Säuren verseift man sie zunächst durch Auflösen in heissem Alkohol, Zusatz starker alkoholischer Kalilauge, Kochen der Mischung $1/2$ bis 1 Stunde lang. Der Alkohol wird dann verdampft, der Rückstand in Wasser gelöst, mit verdünnter Schwefelsäure stark angesäuert, die leichter flüchtigen Säuren mit der grösseren Wassermenge abdestillirt, das Destillat nach § 71 untersucht. Der Rückstand im

Kolben wird nach dem Erkalten mit Aether geschüttelt, die ätherische Lösung abgegossen, mit verdünnter Natronlauge geschüttelt, welche die fetten Säuren aufnimmt, dann die alkalische Lösung mit CO_2 gesättigt und nach § 73 zur Abtrennung der Oelsäure behandelt. Die in Aether unlöslichen Bleiverbindungen werden in heissem Alkohol fein zertheilt, mit SH_2 zerlegt, heiss filtrirt, das Filtrat mit Soda zur Trockne verdampft und der alkoholische Auszug der Natronsalze der fetten Säuren nach § 72 (am Ende) fractionirt gefällt und untersucht.

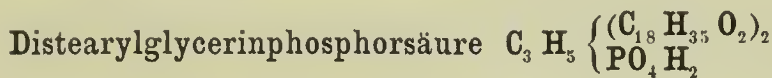
Glycerinphosphorsäure $C_3H_9PO_6$ oder $C_3H_5(OH)_2PO_4H_2$.

86. Die Glycerinphosphorsäure findet sich in sehr geringer Menge im normalen Harne, kommt im Uebrigen wohl nur als Zersetzungsproduct des Lecithin im Blut, leukaemischen Harn, Transsudaten, Muskeln, Gehirn, Nerven, Eidotter, Eiter u. s. w. vor. Sie ist eine zweibasische Säure, welche auch direct durch Einwirkung wasserfreier Phosphorsäure auf Glycerin gebildet werden kann. Sie ist nur als syrupöse Flüssigkeit, nicht im festen Zustande bekannt und zerlegt sich beim Erwärmen allmälig in Glycerin und Phosphorsäure. Ihre Baryt- und Kalksalze sind unlöslich in absolutem Alkohol, leicht löslich in kaltem Wasser. Das Kalksalz wird in perlglänzenden Blättchen erhalten, wenn die kalt concentrirte Lösung zum Sieden erhitzt wird.

Die Lösung der glycerinphosphorsauren Salze wird durch essigsaures Bleioxyd gefällt.

Um Glycerinphosphorsäure in Flüssigkeiten aufzufinden, dampft man die von Eiweissstoffen befreite, mit Barytwasser alkalisch gemachte, durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreite und nach Aufkochenlassen abfiltrirte Flüssigkeit auf ein kleines Volumen ein, lässt einige Zeit stehen, um Kreatin und dergleichen sich ausscheiden zu lassen, dampft mit der Luftpumpe über Schwefelsäure die Flüssigkeit möglichst ein, extrahirt mit absolutem Alkohol den Rückstand, löst das Zurückbleibende in wenig Wasser, filtrirt und prüft nach Verdunsten der Flüssigkeit zur Trockne den Rückstand nach § 61 auf Phosphorsäuregehalt. Statt dessen kann man auch diese letztere Flüssigkeit mit Salzsäure ansäuern, einige Zeit im Kochen erhalten, zur Trockne abdampfen, den Rückstand mit Wasser ausziehen, filtriren und das Filtrat mit ammoniakalischer Magnesia-

lösung auf Phosphorsäure prüfen oder mit molybdänsaurem Ammoniak (vergl. § 54). Das krystallisirte glycerinphosphorsaure Zink ist in seinen mikroskopischen Formen dem milchsauren Zink sehr ähnlich.



Distearylglycerinphosphorsäure $C_3H_5\begin{cases}(C_{18}H_{35}O_2)_2 \\ PO_4H_2\end{cases}$

Diese Säure wurde von Diakonow aus Lecithin durch Schütteln seiner ätherischen Lösung mit verdünnter Schwefelsäure erhalten. Durch Schütteln der ätherischen Lösung mit sehr verdünnter Kalilauge oder mit kohlensaurem Kali wurde ihr neutrales Kalisalz in feinen Krystallen beim Verdunsten des Aethers erhalten. Die Säure ist durch Kochen mit Alkali leicht in Stearinsäure und Glycerinphosphorsäure zu spalten. Im Uebrigen vergl. unten Lecithin.

Kohlehydrate.

Zuckerarten.

Traubenzucker oder Harnzucker $C_6H_{12}O_6$.

87. Unter allen Zuckerarten hat der Traubenzucker, auch Glycose oder Dextrose genannt, bei Menschen und Thieren das ausgebreitetste Vorkommen. Abgesehen vom Darminhalte, in welchem er je nach der Nahrung in sehr wechselnder Quantität vorhanden sein, zeitweise auch fehlen kann, findet er sich bei gesunden Thieren häufig in geringer Menge in dem Safte der Leber, in dem Chylus, regelmässig im Blute und der Lymphe. Dass der Harn im normalen Zustande etwas Traubenzucker enthält, ist nach neueren Untersuchungen durchaus nicht entschieden; in verschiedenen Krankheiten scheint Zuckergehalt des Harnes vorzukommen. In Diabetes mellitus beträgt der Gehalt des Harnes an Traubenzucker fast immer mehrere Procente; auch das Blut enthält in dieser Krankheit reichlicher Zucker, jedoch viel weniger als der Harn.

Man stellt den Traubenzucker leicht rein aus dem diabetischen Harne dar, indem man denselben bei mässiger Temperatur auf dem Wasserbade zum dünnen Syrup abdampft und zur Krystallisation stehen lässt, nach einigen Tagen oder Wochen ist der ganze Syrup krystallisirt. Die körnige Masse wird nun mit wenig Alkohol zerrieben und gewaschen, um den Harnstoff zu entfernen, dann löst man im siedenden Alkohol, filtrirt heiss und lässt zur Krystallisation stehen, die ausgeschiedenen Krystallkörner und Kugeln werden dann noch mehrmals aus heissem Alkohol, nach Soxhlet am Besten aus Methylalkohol umkrystallisirt.

Der auf diese Weise erhaltene Harnzucker ist völlig farblos, bildet vierseitige Prismen mit schräger oder gerader Endfläche; die Krystallflächen sind meist uneben an grösseren Individuen. Sie aggregiren sich beim Krystallisiren strahlig zu Kugeln und Knollen. Die Krystalle des wasserfreien Traubenzuckers sind hart, luftbeständig bei gewöhnlicher Temperatur. In Wasser sind sie nicht sehr leicht löslich und brauchen Zeit zur Lösung, bei dieser Lösung geht der krystallisirte Traubenzucker allmälig in den amorphen über, diese Umwandlung erfolgt schnell bei höherer Temperatur, besonders im kochenden Wasser. Die wässerige Lösung kann zur Trockne abgedampft werden, ohne dass sich ein Krystall bildet, während eine dünne syrupöse Lösung binnen einiger Zeit ruhigen Stehens krystallinisch völlig erstarrt. Diese Krystalle schnell auf 100° erhitzt schmelzen unter Bräunung, beim sehr langsamen Trocknen wird Wasser ohne Schmelzen ausgetrieben, es bleibt eine weisse undurchsichtige Masse von der Form der Krystalle, und diese kann ohne Zerlegung auf 120° und darüber erhitzt werden. Der wasserhaltig krystallisirte Harnzucker hat die Zusammensetzung $C_6H_{12}O_6 + H_2O$. Aus den kochsalzhaltigen Lösungen des Traubenzuckers scheiden sich beim Stehen grosse sechsseitige Doppelpyramiden oder Rhomboëder aus, welche aus $2C_6H_{12}O_6 + NaCl + H_2O$ bestehen und 13,52 pCt. NaCl enthalten.

Wie alle Alkohole lässt sich auch der Traubenzucker mit Säuren und auch mit Basen verbinden. Die Verbindungen mit Säuren erhält man durch andauerndes Erhitzen der getrockneten Substanzen mit einander im zugeschmolzenen Glasrohre. Mit Basen verbindet sich der Traubenzucker leicht und schnell schon bei gewöhnlicher Temperatur, so z. B. mit Kali, Natron, Kalk, Kupferoxyd. Eine wässerige Lösung von Traubenzucker löst reichlich Aetzkalk auf, ebenso auch Kupferoxydhydrat bei Gegenwart von Alkali. Die Verbindung mit Kupferoxyd ist leicht löslich in Natronlauge, kann aber als Niederschlag erhalten werden, wenn man Traubenzuckerlösung und zwar 1 Mol. Glycose auf 5 Mol. Kupfersulfat und 11 Mol. Natronhydrat zufügt; die Lösung ist dann nahezu zuckerfrei*). Die dunkelblaue Flüssigkeit, die man durch Auflösen von Kupferoxydhydrat in alkalischer Traubenzuckerlösung erhält, ist jedoch sehr zersetzlich, schon nach kurzem Stehen scheidet sich ein gelbes oder rothes Pulver, Kupferoxydul, aus, während die Lösung sich entfärbt; hierbei wird der Zucker oxydirt,

*) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 79.

indem Ameisensäure, Oxymalonsäure, vielleicht auch Essigsäure und ein dem Dextrin ähnlicher Körper entstehen. Die Verbindungen mit Kalk oder Aetzkali sind nicht löslich in absolutem Alkohol, zersetzen sich aber gleichfalls bald, wenn sie kurze Zeit stehen und zwar unter Bildung von Milchsäure. Auch wässeriges Ammoniak wirkt zerstörend auf den Traubenzucker ein, während derselbe in sauren Lösungen beständig ist. In der Wärme ist die Einwirkung der Alkalien auf den Zucker noch viel stärker. Mit mässig starker Natronlauge auf 90^0 erwärmt zersetzt sich der Traubenzucker unter lebhafter Wärmeentwickelung in Milchsäure, Brenzcatechin, Ameisensäure und andere unbekannte Producte. Bei der Zerlegung des Traubenzuckers durch Stehenlassen oder Erwärmen mit Alkali bilden sich braune Zersetzungsproducte. Solche alkalische Lösungen von Traubenzucker absorbiren reichlich Sauerstoff, färben sich aber auch ohne Luftzutritt braun. Kohlensaure Alkalien wirken wie die Aetzalkalien, nur schwächer.

Schon beim längeren Kochen mit Wasser wird der Traubenzucker allmälig in gleicher Weise zerlegt, wie durch Alkalilaugen.

Der Traubenzucker ist leicht löslich in Alkohol, unlöslich in Aether. Er besitzt in wässeriger Lösung, wenn dieselbe erhitzt war, oder längere Zeit gestanden hatte, die constante spec. Drehung + 53^0 bis 53,4^0 für die Linie D des Sonnenspectrum, wenn die Lösung nicht über 20 gr. in 100 CC. an wasserfreiem Zucker enthält*). Der in kaltem Wasser gelöste krystallisirte Traubenzucker besitzt gleich nach dem Auflösen eine höhere Rechtsdrehung, die sich beim Stehen allmälig vermindert, schnell beim Erhitzen, bis sie endlich $(\alpha)_D = + 53^0$ beträgt. In alkoholischer Lösung nimmt die Drehung unter der oben geschilderten Zerlegung schnell ab.

Durch essigsaures Bleioxyd wird der Traubenzucker nur bei Gegenwart von Ammoniak gefällt.

Mit Bierhefe in Berührung geht der Traubenzucker in wässeriger Lösung, wenn die Temperatur zwischen 10—40^0 beträgt, sofort die alkoholische Gährung ein. Das Schema $C_6H_{12}O_6 = 2(C_2H_6O) + 2(CO)_2$ drückt den Process der Zerspaltung aus, welchen der Traubenzucker hauptsächlich erleidet. In geringer Menge bilden sich neben dem Aethylalkohol noch Amylalkohol oder andere diesen homologe Alkohole, ferner eine Spur Glycerin und Bernsteinsäure. Die Gährung

*) Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd IX. S. 487 und 1531.

geht am Stärksten bei etwa 25° vor sich. Sie zerlegt nur dann den ganzen vorhandenen Zucker, wenn die Lösung nicht über 15 pCt. davon enthält, da in concentrirteren Lösungen der gebildete Alkohol die Gährung endlich inhibirt. In Berührung mit saurer Milch, Käse, faulenden Albuminaten geht der Traubenzucker bald in Milchsäure über, diese Gährung verläuft jedoch langsamer als die alkoholische und wird durch Blutwärme besonders begünstigt. Anwesenheit von kohlensauren Alkalien begünstigt gleichfalls diese Gährung.

Ebenso wie das Kupferoxydhydrat langsam bei gewöhnlicher Temperatur, schnell beim Erhitzen zu Kupferoxydul reducirt wird, erfährt auch das Wismuthoxydhydrat beim Kochen mit alkalischer Zuckerlösung Reduction, auch Gold-, Platin-, Silber-, Quecksilbersalze werden durch alkalische Zuckerlösung reducirt, Ferridcyankalium zu Ferrocyankalium umgewandelt und Indigo zu Indigweiss reducirt.

Durch Salpetersäure wird der Traubenzucker unter Bildung von Zuckersäure und Oxalsäure zerlegt.

Nachweis des Traubenzuckers und Trennung desselben von anderen Körpern.

88. Um in einer Flüssigkeit Zucker aufzusuchen, hat man stets zunächst die Eiweissstoffe, wenn sie vorhanden sind, daraus zu entfernen. Ist die Flüssigkeit alkalisch oder neutral, so fügt man zu diesem Zwecke Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction hinzu, erhitzt zum Kochen und filtrirt. Eiweissreiche Flüssigkeiten wie Blut mischt man mit dem drei- bis vierfachen Volumen starken Alkohol, lässt einige Zeit stehen, ohne zu erwärmen, filtrirt dann ab. Harn befreit man besser nach dem ersten Verfahren von Eiweissstoffen. Das Alkoholextract, welches man nach dem zweiten Verfahren erhält, verdunstet man auf dem Wasserbade zur völligen Entfernung des Alkohol, und wenn sich noch Eiweissstoffe ausgeschieden haben, extrahirt man nochmals den Rückstand mit viel Alkohol, filtrirt, verdunstet den Alkohol und löst den Rückstand in wenig Wasser. Mit diesen so erhaltenen eiweissfreien Flüssigkeiten macht man die folgenden Proben:

1) Man untersucht dieselben im Polarisationsapparate, ob sie eine Rechtsdrehung besitzen, welche unverkennbar sein wird, wenn die Flüssigkeit nicht etwa nur Spuren von Traubenzucker enthält.

2) Moore's Probe: Man versetzt eine Probe der zu untersuchenden Flüssigkeit im Probirglase mit Aetzkali- oder Aetznatron-

lauge bis zur stark alkalischen Reaction und erhitzt allmälig das Gemisch zum Sieden. Ist Zucker vorhanden, so wird die Flüssigkeit erst gelb, dann braunroth, endlich dunkelbraun bis schwarz gefärbt. Ist wenig Zucker vorhanden, so tritt nur gelbe oder röthliche Farbe ein.

3) Trommer's Probe: Eine andere Probe versetzt man mit überschüssiger Kali- oder Natronlauge und fügt dann unter gutem Umschütteln so lange tropfenweise eine verdünnte Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd hinzu, als der entstehende Niederschlag sich in der Flüssigkeit wieder auflöst. Man erhitzt dann allmälig bis zum Sieden. Enthält die Flüssigkeit Traubenzucker, so löst sie reichlich Kupferoxydhydrat zur dunkelblauen Flüssigkeit und es scheidet sich beim Kochen reichlich der gelbe oder rothe Niederschlag von Kupferoxydul aus. Ist mehr Zucker in der Flüssigkeit, als das zugefügte Kupferoxyd zu oxydiren vermag, so wirkt die freie Aetzalkalilauge auf den übrigen Zucker ein und die Flüssigkeit färbt sich allmälig nach dem Sieden gelb bis braunroth. Hat man dagegen mehr Kupferoxyd hinzugefügt, als der Zucker zu reduciren vermag, so scheidet sich beim Kochen auch schwarzes Kupferoxyd aus und dies verdeckt dann leicht das gleichzeitig ausgeschiedene Kupferoxydul. Man hat sich deshalb wohl in Acht zu nehmen vor zu grossem Ueberschuss der Kupferlösung, während Aetzalkali in grossem Ueberschusse angewendet der Reaction keinen Eintrag thut. Verschiedene organische Stoffe verlangsamen oder verhindern die Abscheidung des bei dieser Reaction sich bildenden Kupferoxyduls; ziemlich reichlich finden sich solche Körper im normalen menschlichen Harne, in viel geringerer Menge im diabetischen Harne. Wenn nun die Veränderung der Farbe, aber keine Oxydulabscheidung zu bemerken ist, erkennt man die geringsten Spuren des gebildeten Oxydul, wenn man im Probirglase auf die gekochte und etwas erkaltete Flüssigkeit verdünnte Salzsäure vorsichtig darauf schichtet. Der obere Theil der Flüssigkeit wird hierbei übersättigt und an der Grenze der Flüssigkeiten zeigt sich ein sehr feiner weisser bis gelber oder röthlicher Niederschlag, der sich dann allmälig zu Boden senkt.

Ueber die Verbindungen und Umwandlungen des Zuckers bei der Trommer'schen Probe sind von Worm-Müller sehr eingehende Untersuchungen ausgeführt*). Der Ueberschuss des Alkali beschleunigt

*) Worm Müller, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 16. 17. 22.

die Reduction, aber schon bei Lösungen, welche 1 Mol. Alkali auf 1 Mol. Zucker enthalten, können 5 Mol Kupferoxydhydrat reducirt werden. Mittelst der Trommer'schen Probe kann der Zucker in einer 0,0025 proc. Lösung in 1 CC. derselben nachgewiesen werden, doch gilt diese Genauigkeit nur für sehr günstige Verhältnisse. Nach Worm-Müller ist die Genauigkeit und Empfindlichkeit der Fehling-schen Lösung (vergl. unten beim Harne) noch viel grösser.

Barfoed's Probe*). 1 Thl. krystallisirtes, essigsaures Kupfer wird in 15 Thl. Wasser gelöst und 200 CC. dieser Lösung mit 5 CC. einer Essigsäure versetzt, die 38 pCt. $C_2H_4O_2$ enthält. $^1/_2$ bis 1 CC. dieser Kupferlösung wird mit 2—4 CC. der auf Zucker zu prüfenden Lösung $^3/_4$ bis 1 Minute lang gekocht. Es tritt Reduction zu Kupferoxydul ein, wenn die Lösung noch $^1/_{16}$ pCt. Zucker enthält. Nach manchen Versuchen ist jedoch die Empfindlichkeit dieses Reagens nicht so gross.

4) Boettcher's Probe: Man fügt zu einer Portion der zu prüfenden Flüssigkeit eine Messerspitze voll Wismuthoxyd oder basisch salpetersaures Wismuthoxyd, alsdann einen reichlichen Ueberschuss einer concentrirten Lösung von kohlensaurem Natron oder etwas Aetzalkalilauge, erhitzt nun zum Sieden und erhält einige Zeit im Sieden. Enthält die Flüssigkeit Traubenzucker, so färbt sich der Niederschlag bald grau, endlich schwarz, durch Reduction des Wismuthoxydes. Sind nur Spuren von Zucker zu vermuthen, so ist auch weniger Wismuthoxyd zur Probe zu verwenden, als wenn reichlicher Gehalt anzunehmen ist.

Brücke empfiehlt, um Abscheidung von Schwefelwismuth bei dieser Probe zu verhüten, die schwefelhaltigen Stoffe mit Jodwismuthjodkalium auszufällen, nach der Filtration Kalilauge im Ueberschuss zuzusetzen und zu kochen.

Francqui und van Vyvere**) haben vorgeschlagen, folgende Mischung anzuwenden: Salpetersaures Wismuthoxyd wird mit grossem Ueberschuss von Kali gefällt, dann Weinsäure bis zur völligen Lösung des Niederschlags hinzugefügt. Zuckerhaltiger Harn mit einigen Tropfen dieser Mischung gekocht giebt einen schwarzen Niederschlag von Wismuth.

---

*) Barfoed, Zeitschr. f. anal. Chemie. Bd. 12. S. 28. Worm Müller, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 22. S. 352.

**) Zeitschr. f. Chem. 1866. S. 255.

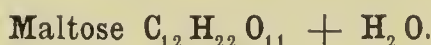
5) Mulder's Probe: Fügt man zu einer traubenzuckerhaltigen Flüssigkeit etwas Indigolösung, die mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht ist, und erhitzt dann zum Sieden, so geht die blaue Farbe der Flüssigkeit in Gelb über, wenn reichlich Zucker vorhanden ist, purpurrothe Färbung tritt dagegen ein, wenn der Gehalt an Traubenzucker sehr gering ist. Schüttelt man die entfärbte, d. h. gelb oder auch nur violett gefärbte Flüssigkeit mit atmosphärischer Luft, so wird sie wieder blau und kann sich dann beim Stehen nochmals entfärben.

6) Bringt man in eine mit Quecksilber gefüllte und umgekehrt in ein Gefäss mit Quecksilber gestülpte Glasröhre mittelst einer Pipette mit krummem Schnabel eine Traubenzucker enthaltende neutrale oder schwach saure Flüssigkeit, mit ein wenig Hefe versetzt, und lässt bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen, so zeigt sich bald Gasentwickelung (Kohlensäure), die 2 oder mehr Tage währt. Lässt man dann zu dieser Flüssigkeit etwas concentrirte Kalilauge aufsteigen, so wird das entwickelte Gas vollständig wieder absorbirt.

89. Zur Abscheidung des Traubenzuckers aus wässerigen Flüssigkeiten kann man sich mit Vortheil der Fällbarkeit desselben durch essigsaures Bleioxyd und Ammoniak bedienen. Zertheilt man den Niederschlag in Alkohol und leitet Schwefelwasserstoff hindurch, filtrirt und dampft zum Syrup ab, so erhält man den Zucker von einem grossen Theile anderer Stoffe getrennt. Löst man den Rückstand in absolutem Alkohol und fügt alkoholische Kalilösung hinzu, so lange ein Niederschlag entsteht, so erhält man Traubenzucker-Kali als in Alkohol unlöslichen Niederschlag. Man filtrirt, löst den Niederschlag in wenig Wasser, leitet sogleich Kohlensäure bis zur Sättigung des Kali hindurch, fällt die Lösung mit viel absolutem Alkohol, filtrirt, verdunstet bei möglichst niedriger Temperatur zum Syrup und lässt einige Wochen zur Krystallisation stehen. Diese Darstellung des Traubenzuckers führt nur dann zu einem guten Resultate, wenn man den Zucker nur sehr kurze Zeit mit dem Kali in Verbindung lässt, also schnell Kohlensäure einleitet und mit Alkohol fällt; der Zucker entgeht trotz aller Geschwindigkeit und auch bei niedriger Temperatur der Zersetzung durch das Kali nicht ganz.

Da verschiedene Stoffe in derselben Weise wie Traubenzucker Kupferoxyd, Silberoxyd u. s. w. zu reduciren vermögen, so können die obigen Proben an sich nicht über die Anwesenheit des Traubenzuckers in thierischen Flüssigkeiten die sichere Entscheidung liefern.

Die Reduction des Indigo ist eben so wenig maassgebend, und die des Wismuthoxydes, wenn auch zuverlässiger als die Reduction der vorhin genannten Körper, giebt wenigstens dem Milchzucker gegenüber keinen Beweis. Will man es daher gänzlich ausser Zweifel stellen, dass eine Flüssigkeit Traubenzucker enthält, so ist 1) rechtsseitige Circumpolarisation der Flüssigkeit zu constatiren, 2) eine Krystallisation des Traubenzuckers, 3) Krystallisation des Traubenzucker-Chlornatrium darzustellen und endlich 4) die directe sofortige Gährungsfähigkeit in Berührung der wässerigen Lösung mit Hefe zu constatiren. Erst wenn in diesen Beziehungen gleichfalls Uebereinstimmung mit dem Verhalten des Traubenzuckers nachgewiesen ist, darf man die Identität als unzweifelhaft ansehen. (Vergl. § 90 u. 92, Unterschiede von Maltose und Milchzucker.)



Maltose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$.

90. Bei der Einwirkung von diastatischem Ferment auf Amylum oder Glycogen entsteht Maltose neben Dextrinen, nur langsam wandelt sich dann durch das Ferment die Maltose in Traubenzucker um, während beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure diese Umwandlung viel schneller geschieht, wenn auch viel schwieriger, als die Invertirung des Rohrzuckers.

Die Maltose ist leicht löslich in Wasser, auch ziemlich leicht löslich in Alkohol und wird aus der alkoholischen Lösung durch Aether in weissen, nadelförmigen Krystallen ausgefällt, während zugleich vorhandener Traubenzucker gelöst bleibt. Maltose in wässriger Lösung giebt mit Hefe direct alkoholische Gährung, sie reducirt Kupferoxyd in alkalischer Lösung zu Oxydul und zwar reduciren 100 Gewichtstheile Maltose so viel Kupferoxyd wie 66 Gewichtstheile Traubenzucker.

Nach Meissl*) ist das spec. Drehungsvermögen der Maltose veränderlich, wird mit steigender Concentration der Lösung, ebenso mit steigender Temperatur geringer und lässt sich im Allgemeinen ausdrücken durch die Formel $(\alpha)_D = +140{,}375^0 - 0{,}01837 P - 0{,}095 T$, in welcher P den Procentgehalt an wasserfreier Maltose und T die Temperatur bezeichnet. Bei Anwendung einer 200 Millimeter langen Beobachtungsröhre giebt, bei $17{,}5^0$ und einem Gehalt zwischen 5 und 40 Gr. Maltose in 100 CC. Lösung, die Anzahl der abgelesenen Grade

*) Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 25. S. 114.

der Rotation multiplicirt mit 0,362 den Gehalt an wasserfreier Maltose in Grammen für 100 CC. Lösung und zwar bis auf ± 0,05 genau.

Bei der Umwandlung der Maltose durch Kochen mit verdünnter Säure tritt ein kleiner Verlust an Traubenzucker ein.

Kalt frisch bereitete, wässrige Maltoselösungen steigern allmälig, beim Stehen schneller, beim Erhitzen ihre Drehung, bis sie die obige Grösse erreicht haben.

Milchzucker $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$.

91. Der Milchzucker ist bis jetzt allein in der Milch vom Menschen und den verschiedensten Pflanzenfressern, ebenso in der Hundemilch aufgefunden und ist der einzige Zucker, den man in diesem Secrete nachgewiesen hat.

Man stellt ihn aus der Kuhmilch durch Ansäuern derselben mit Essigsäure bis zur Gerinnung des Caseïn oder Ausscheidung des Caseïn durch Lab, Coliren durch ein leinenes Tuch, Erhitzen des Filtrats zum Kochen, Abfiltriren des coagulirten Albumin, Abdampfen der Molken zur Krystallisation, Abgiessen der Mutterlauge von den in einigen Tagen beim Stehen ausgeschiedenen Krystallen dar. Man reinigt ihn durch Umkrystallisiren aus der warmen wässerigen Lösung.

Der Milchzucker bildet farblose, harte, glänzende, oft ziemlich grosse Krystalle, welche zum rhombischen Systeme gehören und sehr ausgeprägt hemiëdrisch sind (achtseitige Prismen mit stärkerer Ausbildung von vier Seiten gegen ihre benachbarten schmaleren, schräge Endfläche unten und oben am Prisma).

Der Milchzucker löst sich in 6 Theilen kalten und 2½ Theilen kochenden Wasser, ist unlöslich in absolutem Alkohol oder Aether. Seine wässerige Lösung hat einen schwach süssen Geschmack; reagirt neutral. Mit Wasser über 100° erhitzt giebt er eine braungefärbte Lösung. Vorsichtig allmälig auf 150° erhitzt verliert er ein Molecule Wasser ohne wesentliche weitere Zersetzung. Wird er mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure längere Zeit gekocht, so geht er in einen stark rechtsdrehenden, direct gährungsfähigen krystallisirbaren Zucker, Lactose, neben Traubenzucker über. Der unzersetzte Milchzucker zeigt in heissem Wasser gelöst die spec. Drehung $(\alpha)_D = + 52{,}4^0$ nach Makris*) (Milchzucker aus menschlicher Milch), $(\alpha) = + 52{,}53^0$

---

*) Makris, Studien über die Eiweisskörper der Frauen- und Kuhmilch. Diss. Strassburg 1876.

nach Schmöger*) (Milchzucker aus Kuhmilch) bei 20⁰ berechnet für $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$. Diese spec. Drehung ist constant bei verschiedener Concentration der Lösung bis zur Concentration 36 grm. in 100 CC. Lösung, ändert sich aber mit der Temperatur in der Weise, dass in der Nähe von 20⁰ die spec. Drehung mit Erhöhung der Temperatur abnimmt und zwar ungefähr um $0{,}055.(\alpha)_D$, wenn die Aenderung der Ausdehnung der Flüssigkeit etc. durch die Wärme berücksichtigt wird.

Wird eine wässerige Lösung von Milchzucker in einem Metallgefäss schnell eingekocht, so erstarrt fast plötzlich die ganze Lösung zu einer porösen, nur aus kleinen wasserfreien Milchzuckerkrystallen bestehenden Masse. Dieser krystallisirte wasserfreie Milchzucker löst sich leichter als der wasserhaltige oder trocken entwässerte in kaltem Wasser und hat frisch in Wasser gelöst geringe rechtsseitige Drehung, die beim Stehen zunimmt, während die andere Art von Milchzucker zuerst starke, allmälig beim Stehen der Lösung abnehmende Rechtsdrehung zeigt**).

Wie der Traubenzucker wird auch der Milchzucker in sauren Lösungen beim Stehen und Erwärmen weniger leicht zerlegt als in alkalischen. Die letzteren bräunen sich allmälig in gewöhnlicher Temperatur, schnell beim Erhitzen. Mit Basen verbindet sich der Milchzucker schnell. Er reducirt Kupferoxyd, Wismuthoxyd, Silberoxyd und Indigo in alkalischer Lösung eben so leicht als Traubenzucker. Erwärmt man Milchzucker mit mässig verdünnter Salpetersäure, so bildet sich Schleimsäure, Weinsäure, Traubensäure, die erste besonders reichlich; bei weiterer Einwirkung von Salpetersäure werden diese zu Oxalsäure u. s. w. zerlegt. Durch Reduction mit Natriumamalgam entstehen Dulcit und Mannit.

Mit Hefe geben Milchzuckerlösungen erst nach längerem Stehen ganz unvollkommene Alkoholgährung. Versetzt man die Lösung dieses Zuckers aber mit saurer Milch oder Käse und Kreide (oder Zinkoxyd), so tritt schnelle Umwandlung zu Milchsäure ein (vergl. § 78). Bei Bluttemperatur geht diese Gährung, die übrigens stets von etwas Alkohol- oder Kohlensäurebildung begleitet ist, am Schnellsten vor sich.

Durch essigsaures Bleioxyd und Ammoniak wird Milchzucker

*) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 13. S. 1922.

**) Erdmann, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 13. S. 2180.

aus seinen wässerigen Lösungen ebenso wie der Traubenzucker völlig ausgefällt, während er durch Kochen mit neutralem essigsauren Bleioxyd weder gefällt noch verändert wird.

Trennung und Nachweis des Milchzuckers.

92. Hat man aus Flüssigkeiten durch etwas Essigsäure und Kochen die Eiweissstoffe coagulirt und filtrirt, so kann man in denselben zunächst durch die Trommer'sche oder die Boettcher'sche Probe (vergl. § 88, 3. 4.) das Vorhandensein oder Fehlen von Zucker constatiren. Ist Zucker vorhanden, so dampft man die Flüssigkeit bei mässiger Temperatur im Wasserbade auf ein sehr kleines Volumen ein, versetzt dann mit einem Ueberschusse an Weingeist, erhitzt zum Kochen, filtrirt, verdunstet bei mässiger Temperatur auf ein kleines Volumen und lässt den dünnen Syrup einige Tage bis Wochen zur Krystallisation stehen. Die ausgeschiedenen Krystalle werden mit Alkohol gewaschen und dann in folgender Weise geprüft:

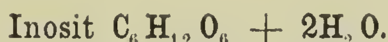
1) ob die Krystalle in Wasser gelöst Kupferoxydhydrat beim Kochen reduciren (vergl. § 88, 3.);

2) ob in ihrer wässerigen concentrirten Lösung rechtsseitige Circumpolarisation zu erkennen ist und ob diese Rechtsdrehung sich erhöht, wenn man die Lösung mit verdünnter Salzsäure versetzt, eine Stunde kocht und wieder auf das frühere Volumen bringt;

3) ob die wässerige Lösung der Krystalle mit etwas Zinkoxyd und ausgewaschenem, bei Gerinnung der Milch abgeschiedenem Käsestoff versetzt und einige Tage bei 30—40° stehen gelassen milchsaures Zinkoxyd (vergl. § 78) liefert;

4) ob etwas wässerige Lösung sofort oder erst nach einstündigem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure und Neutralisation mit $CaCO_3$ auf Zusatz von etwas Bierhefe alkoholische Gährung eingeht.

Die Darstellung von Schleimsäure aus Milchsäure gelingt noch mit ziemlich kleinen Quantitäten Milchzucker.



Inosit $C_6H_{12}O_6 + 2H_2O$.

93. Der Inosit, in verschiedenen Pflanzen, im frischen Traubensafte und im Weine, besonders in grünen Bohnen enthalten und daraus leicht in grösserer Quantität darzustellen, findet sich in geringer Menge im Herzfleische, auch in anderen Muskeln, in der Leber, Milz, Lunge,

Nieren, Nebennieren, Gehirn. Im Harne ist Inosit besonders bei Albuminurie, bei Diabetes mellitus gefunden; Spuren von Inosit finden sich nicht nur bei Polyurie, sondern auch in normalem Harne. In den Muskeln wurde er besonders bei Säufern gefunden, auch die Flüssigkeit von Echinococcen in der Leber enthält etwas Inosit.

Der Inosit bildet, wenn er rein ist, farblose grosse rhomboëdrische, an trockner Luft schnell verwitternde Krystalle des monoklinoëdrischen Systems, im unreinen Zustande und in geringer Menge zeigt er sich in zarten dendritischen Vegetationen. Getrocknet schmilzt er erst bei 210° und erstarrt beim Erkalten zu feinen Nadeln. Er löst sich leicht in Wasser, ist dagegen in starkem Alkohol oder Aether unlöslich. Die wässerige Lösung besitzt süssen Geschmack, giebt mit Hefe versetzt keine alkoholische Gährung, bewirkt keine Circumpolarisation und löst Kupferoxydhydrat, ohne es beim Kochen zu reduciren. Durch Kochen mit Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure wird Inosit nicht verändert; mit concentrirter Salpetersäure digerirt geht er in Nitroinosit über, welcher durch Schwefelsäure gefällt wird, in Alkohol löslich ist. Nitroinosit reducirt Silberoxyd (Inosit nicht), auch Kupferoxydhydrat in alkalischer Lösung zu Oxydul. Mit faulenden Eiweissstoffen in wässeriger Lösung zerfällt der Inosit unter Bildung von Milchsäure und Buttersäure, und zwar ist diese Milchsäure gewöhnliche Gährungsmilchsäure*). Durch basisch essigsaures Bleioxyd wird der Inosit aus der wässerigen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur nach einiger Zeit, beim Kochen sogleich als Gallert gefällt.

Inosit-Probe von Scherer: Dampft man eine Probe Inosit mit Salpetersäure auf Platinblech fast bis zur Trockne ein, versetzt den Rückstand mit Ammoniak und einem Tropfen Chlorcalciumlösung und dampft nun vorsichtig zur Trockne ab, so erhält man eine schön rosarothe Färbung. Diese Probe gelingt aber nur dann, wenn der Inosit bereits ziemlich rein dargestellt ist.

Zur Darstellung des Inosit aus Gewebsflüssigkeiten, besonders Muskeln, kann man sich entweder der Fällung mit Bleiessig bedienen oder den Vorschriften Boedeker's**) folgen: Man versetzt die Flüssigkeit (wässerige Extracte der Muskeln oder Drüsen, Lunge u. s. w.) nach Coaguliren des Albumins, Ausfällen der Phosphorsäure durch

*) Vohl, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 9. S. 984.
**) Ann. Chem. Pharm. Bd. 117. S. 118.

Barythydrat, Eindampfen und Auskrystallisiren des Kreatin kochend mit dem ein- bis vierfachen Volumen Alkohol; entsteht hierdurch ein starker, am Glase haftender Niederschlag, so giesst man nur die heisse alkoholische Lösung ab; entsteht aber ein flockiger, nicht klebriger Niederschlag, so filtrirt man durch zuvor erhitzten Trichter die heisse Lösung ab und lässt erkalten. Wenn sich nach 24 Stunden Gruppen von Inositkrystallen abgesetzt haben, so giesst man die Lösung nochmals durch's Filter ab, spült die Krystalle mit wenig kaltem Alkohol ab (und es ist dann rathsam, den auf Zusatz von heissem Alkohol erhaltenen Niederschlag nochmals in wenig kochendem Wasser zu lösen und nochmals mit dem drei- bis vierfachen Volumen Alkohol zu fällen, wieder abzugiessen, um keinen Verlust an Inosit zu erleiden). Haben sich aber keine Inositkrystalle abgesetzt, so versetzt man das klare alkoholische Filtrat mit Aether nach und nach unter Umschütteln, bis beim Umschütteln etwas milchige Trübung bleibt, und lässt dann 24 Stunden stehen. Hat man hinreichend Aether zugesetzt (der überschüssige Aether schadet nicht, macht nur kleinere Krystalle), so ist aller Inosit in Form schön perlmutterglänzender Blättchen abgeschieden.

Scyllit*) ist ein in Wasser schwer löslicher, in Alkohol unlöslicher, ohne Krystallwasser krystallisirender, süss schmeckender Körper genannt, der in Leber, Kiemen, Milz, und besonders in den Nieren von Rochen und Haifischen von Staedler und Frerichs gefunden ist. Seine Zusammensetzung ist unbekannt, die Scherer'sche Inositreaction giebt er nicht, wird aber durch basisch essigsaures Bleioxyd kleisterartig gefällt, durch Kochen mit Natronlauge nicht verändert, eben so wenig durch Salpetersäure; Kupferoxyd reducirt er nicht.

Glycogen $C_6H_{10}O_5$.

94. In den Lebern von Fleisch- und Pflanzenfressern, wie es scheint bei allen Wirbelthieren, findet sich Glycogen reichlich, so lange sie sich wohl befinden. Herz und Muskeln enthalten im frischen Zustande stets Glycogen, dasselbe findet sich in allen thierischen entwickelungsfähigen Zellen, normalen wie pathologischen, farblosen Blutkörperchen, der Embryoanlage des Hühnchen, den Chorionzotten, Papillomgeschwülsten u. s. w. Es fehlt in den Lebern kranker Thiere.

Besonders reichlich fand G. Bizio**) Glycogen in verschiedenen Muscheln, besonders Ostrea edulis, Cardium edule.

*) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 73. S. 48.

**) Atti dell' Istituto veneto di scienze. etc. Vol. XI. Ser. 3. 1866.

Das Glycogen ist eine amorphe, farb- und geschmacklose, in Wasser leicht lösliche, in Alkohol oder Aether unlösliche Substanz. Die wässerige Lösung zeigt eine sehr starke weisse Opalescenz. Beim Kochen mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure wandelt sich das Glycogen zunächst in Dextrin, dann in Maltose, schliesslich in Traubenzucker um. Dieselbe Umwandlung erleidet es durch Speichel, Pancreassecret, Lebersubstanz u. s. w. Beim Erhitzen von Glycogen mit Kalilauge auf dem Wasserbade wird dasselbe um so stärker zersetzt, je concentrirter die Kalilauge ist*). Mit gesättigter Aetzbarytlösung giebt Glycogen einen voluminösen Niederschlag von der Zusammensetzung $C_{18}H_{30}O_{15}Ba$**), der in Barytwasser unlöslich ist, in reinem Wasser sich löst und durch CO_2 in Glycogen und Bariumcarbonat zerlegt wird. Durch Einwirkung von Brom und Wasser auf Glycogen bildet sich eine Säure $C_6H_{12}O_7$, welche Chittenden Glycogensäure***) nennt, die krystallisirbare Salze liefert, Kupferoxyd in alkalischer Lösung löst und beim Kochen sehr langsam reducirt. Durch kalte concentrirte Salpetersäure wird es in Xyloïdin umgewandelt, mit schwacher Salpetersäure gekocht giebt es Oxalsäure. Durch Jod wird es roth bis violett gefärbt. Kupferoxydhydrat wird durch das Glycogen aufgelöst und beim Kochen nicht reducirt. Bleizuckerlösung bewirkt nur Trübung in Glycogenlösung; leitet man Schwefelwasserstoff durch die Lösung, so bleibt das Schwefelblei (wie in Lösungen von Leim oder Albuminstoffen) suspendirt, fällt aber auf Zusatz von Aetznatron nieder. Das Glycogen zeigt in wässeriger Lösung sehr starke rechtsseitige Circumpolarisation, die mit wünschenswerther Genauigkeit sich schwer bestimmen lässt wegen der starken Lichtdispersion, welche die Glycogenlösungen zeigen. Böhm und Hofmann bestimmten ungefähr diese Drehung zu $(\alpha)_j = +226{,}7^0$, Külz im Mittel zu $+211^0$ und fand sie unabhängig von der Concentration der Lösungen, auch unbeeinflusst durch Zusatz von Salzsäure, Kali- oder Natronlauge, Jodquecksilberkalium in der Kälte. Unterschiede im Verhalten und Zusammensetzung des aus Muskeln oder Leber oder anderen Organen bei vegetabilischer oder animaler Nahrung dargestellten Glycogens haben sich nicht nachweisen lassen. Bei 100° getrocknet entspricht

---

*) v. Vintschgau und Dietl, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 13. S. 253 und Bd. 17. S. 154.

**) Abeles, Wien. med. Jahrb. 1877. S. 551.

***) American. Journ. of sc. and arts XI. Mai 1876.

die Zusammensetzung des Glycogen der Formel $6(C_6H_{10}O_5) + H_2O$, bei 110° dagegen $11(C_6H_{10}O_5) + H_2O$.

Um das Glycogen nachzuweisen, kann man sich der Jodreaction bedienen, soweit nicht Verwechselung mit Amyloid zu befürchten ist. Da das Letztere in Wasser nicht löslich ist und durch obige Fermente oder Kochen mit Säuren nicht in Zucker umgewandelt wird, so ist es leicht, beide Körper gut von einander zu unterscheiden. Da aber das Glycogen an den Orten, wo es abgelagert ist, gewöhnlich nach der Herausnahme und Zerkleinerung des Organs zugleich Ferment vorfindet zu seiner Umwandlung in Traubenzucker, so müssen die Untersuchungen auf Glycogen in Organen oder Flüssigkeiten so schnell als möglich begonnen oder durch Zusatz von Alkohol bis zur Fällung die Einwirkung des Ferments unmöglich gemacht werden.

Zur Gewinnung von Glycogen aus Leber, Herz, Muskeln u. s. w. ist in allen Fällen den früher angegebenen Verfahren die von Brücke*) zuerst benutzte Methode vorzuziehen, die im Wesentlichen die folgende ist und sich zugleich zur quantitativen Bestimmung eignet. Die Organe werden mit kleinen Quantitäten Wasser so lange ausgekocht, bis die Extracte gegen Jodlösung keine Glycogenreaction mehr geben. Hierzu ist sehr häufige Wiederholung des Extrahirens erforderlich. Die gesammelten Flüssigkeiten werden nach dem Erkalten mit Salzsäure und Jodquecksilberkaliumlösung (vergl. § 34) in der Weise ausgefällt, dass man abwechselnd Salzsäure und das Jodquecksilberkalium zufügt unter Umrühren, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Man filtrirt dann und fügt unter Umrühren so lange Weingeist hinzu, als noch Glycogen gefällt wird. Zu viel Alkohol ist zu vermeiden, weil zuerst nur Glycogen, später auch andere Stoffe gefällt werden. Man filtrirt (bei quantitativer Bestimmung durch gewogenes Filter), wäscht zunächst mit 60procentigem Weingeist, bis das Filtrat eine verdünnte, mit etwas Ammoniak versetzte Aetzkalilösung nicht mehr trübt, wäscht dann mit Alkohol von 95 pCt., darauf einige Male mit Aether, dann nochmals mit Alkohol und bringt dann das Filter über Schwefelsäure in den Exsiccator. Durch das schliessliche Waschen mit Alkohol wird das Glycogen als feines weisses Pulver erhalten, das sich leicht vom Filter ausschütten lässt.

Um das Glycogen aus schwierig zu zerkleinernden Organen möglichst vollständig zu extrahiren, hat Brücke z. B. Fleisch mit Wasser

*) Sitzungsber. d. Wiener Akad. LXIII. II. 3. Febr. 1871.

gekocht, dem etwas Aetzkalilauge zugefügt war. Hierbei wird das Glycogen wahrscheinlich zum kleinen Theil zersetzt und reichlicher Zusatz von Jodquecksilberkalium zur Ausfällung des Leims, der Eiweissstoffe und ihrer Zersetzungsproducte erforderlich.

Böhm*) empfiehlt das Glycogen aus Muskelfleisch zunächst 3mal mit siedendem Wasser zu extrahiren, dann den Rückstand 12 Stunden im eisernen Digestor zu kochen. Der ausgepresste Fleischrückstand könne auch dann noch bis 5 pCt. vom Glycogen zurückhalten. Den nach Brücke erhaltenen Jodquecksilberjodkaliumniederschlag soll man noch feucht vom Filter nehmen, mit etwas Jodquecksilberjodkaliumlösung zerreiben, wieder auswaschen und dies noch ein- oder zweimal wiederholen, weil dieser Niederschlag viel Glycogen einschliesst. Schliesslich ist das Glycogen mehrmals in Wasser zu lösen und mit der erforderlichen Menge Alkohol zu fällen. Hierbei wird jedoch bei völliger Entfernung der anorganischen Salze, welche gelöst bleiben, eine Glycogenlösung schliesslich nach Külz**) erhalten, die mit der 4- bis 5fachen Quantität Alkohol keine Fällung giebt, wenn nicht eine kleine Quantität Salz, z. B. NaCl hinzugefügt wird.

Für die quantitative Bestimmung des Glycogen hat Külz die Circumpolarisationsmessung vorgeschlagen. Hierzu fehlt es aber an genauen Bestimmungen der spec. Rotation im einfarbigen Lichte und ausserdem ist die starke Opalescenz sehr hinderlich.

Abeles***) zerkocht zur Gewinnung des Glycogen das Organ mit Wasser und Kalilauge, fügt Salzsäure hinzu, so dass die Flüssigkeit gerade noch alkalisch reagirt, und fällt nun mit Chlorzink, einen grossen Ueberschuss dieses Reagens vermeidend, filtrirt den Eiweissniederschlag ab und fällt dann das Glycogen durch Alkohol. Das Glycogen ist dann noch aschehaltig.

Zur Prüfung des Glycogengehaltes in neutralen Lösungen bringt man gleiche Portionen verdünnter Jodlösung in zwei Probirgläser von gleichem Durchmesser, fügt zur einen etwas von der zu prüfenden Lösung, zur anderen eben so viel Wasser und vergleicht in beiden die Färbung.

Achrooglycogen. Aus dem Mucin, welches durch Extraction der Schnecken mit Wasser, Filtration und Fällung mit Essigsäure dargestellt war, hat Landwehr†) durch Behandlung mit verdünnter Kalilauge, Abscheidung der Eiweissstoffe

---

*) Arch. f. d ges. Physiol. Bd 23. S. 44.

**) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 15. S. 1300.

***) a. a. O

†) Zeitschr. f. physiol Chem. Bd. 6. S. 75.

mittelst Jodquecksilberjodkalium, Filtration und Fällung mit Alkohol einen Körper erhalten, den er Achrooglycogen genannt hat, weil er mit dem Glycogen in den Reactionen im Uebrigen übereinstimmt, aber durch Jod nicht gefärbt wird.

Tunicin $C_6 H_{10} O_5$.

Im Mantel der Ascidien ist von C. Schmidt eine Substanz aufgefunden, die gegen starke Säuren und Alkalien sich auch beim Kochen sehr resistent erweist und die Zusammensetzung der Cellulose $C_6 H_{10} O_5$ besitzt. Dieselbe färbt sich mit Jod und Schwefelsäure blau, wird von Kupferoxydammoniaklösung gelöst, von rauchender Salpetersäure in eine explosive Salpetersäureverbindung übergeführt, ähnlich der Schiessbaumwolle, und giebt beim Zusammenreiben mit concentrirter Schwefelsäure und Eintragen der Masse in das 100fache Volumen Wasser eine Lösung, welche Zucker enthält, Kupferoxyd in alkalischer Lösung löst und beim Erwärmen reducirt und in wässeriger Lösung mit Hefe CO_2 und Alkohol liefert. Berthelot*) gab ihr den Namen Tunicin, Schäfer**) glaubt sie als Cellulose ansehen zu dürfen, Berthelot***) hält dagegen an der Ansicht fest, dass sie eine von Cellulose verschiedene Substanz sei.

Dextrine $C_6 H_{10} O_5$.

95. Bei der Spaltung von Amylum, Glycogen mit verdünnten Säuren oder diastatischen Fermenten bilden sich in Wasser in jedem Verhältniss lösende, in stärkstem Alkohol unlösliche Körper, welche in concentrirter Lösung in Wasser dick gummiartige Beschaffenheit zeigen, nicht krystallisiren und keine Verbindungen bis jetzt ergeben haben, welche über die Grösse der Molecule Aufschluss geben. Sie stehen dem Amylum und Glycogen in den Eigenschaften sehr nahe, werden wie man glaubte zum Theil durch Jod roth gefärbt (Erythodextrin), nach Musculus und Meyer†) sind dies Gemenge von löslichem Amylum und Dextrin, bei Mangel des ersteren gar nicht gefärbt (Achroodextrine), durch Behandlung mit diastatischem Ferment schwierig oder gar nicht in Maltose und Traubenzucker übergeführt, durch Kochen mit verdünnten Säuren leichter in dieser Weise umgewandelt. Sie sind fällbar durch basisch essigsaures Blei und Ammoniak. Alle lösen und einige reduciren Kupferoxyd in alkalischer Lösung beim Kochen. Sie sind alle ausgezeichnet durch starke rechts-

---

*) Ann. chim. phys. LVI. S. 149. 1859.

**) Ann. Chem. Pharm. Bd. 160. S. 312.

***) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1873. S. 587.

†) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 451.

seitige Drehung. Musculus und Meyer*) erhielten ein Dextrin von + 131 — 134° spec. Drehung, nicht gährungsfähig, von Diastase nicht angreifbar aber beim Kochen mit Säuren in Traubenzucker übergehend, als sie trocknen reinen Traubenzucker in concentrirter Schwefelsäure gelöst mit absolutem Alkohol fällten und auswuschen. Die Zusammensetzung wurde zu $C_{18}H_{28}O_{14}$ gefunden.

In den milchzuckerfreien, mit Kupfersulfat aus der Milch erhaltenen kupferhaltigen Niederschlägen von Albuminstoffen hat Ritthausen**) einen Körper gefunden, der sich leicht in Wasser, wenig in Alkohol, nicht in Aether löst und Fehling'sche Lösung nach geringem Erwärmen mit etwas Schwefelsäure stark reducirte.

Von Schmiedeberg***) wurde aus der Substanz der Wohnröhren von Onuphis tubicola durch Erhitzen mit Wasser auf 120—130° 24 Stunden lang ein dextrin- oder glycogenartiges Spaltungsproduct erhalten, welches in Wasser löslich ist, durch Alkohol in Flocken, die gummiartig sich zusammenballen, gefällt wird und nach Trocknen leicht als gelbliches Pulver erhalten wird. Diese Substanz reducirt Kupferoxyd nicht in alkalischer Lösung, wird durch Jod nicht gefärbt, giebt aber Reduction von Kupfer in alkalischer Lösung nach Kochen mit verdünnter Mineralsäure. Durch Kalilösung wird dieser Körper schwer angegriffen.

Glycuronsäure $C_6H_{10}O_7$.

96. Die einbasische Glycuronsäure wurde in reinem Zustande zuerst dargestellt von Schmiedeberg und H. Meyer†) aus Camphoglycuronsäure, die im Harne nach Eingeben von Campher erhalten war, dann von v. Mering††) aus Urochloralsäure und aus Urobutylchloralsäure durch Spaltung dieser Säuren in der Siedetemperatur mit verdünnter Salzsäure. Nach Entfernung der andern Spaltungsproducte (Campherol im ersten Falle) durch Aether oder (Trichloräthyl- oder Trichlorbutylalkohol im zweiten Falle) durch Destillation wird die Glycuronsäure mit Bleicarbonat gesättigt, filtrirt, das Filtrat bei mässiger Wärme eingedampft und mit Alkohol gefällt. Der Niederschlag verwandelt sich beim Stehen in Krystalle; sie werden in Wasser gelöst

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 122.

**) Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 15. S. 329.

***) Mittheilungen a. d. zoolog. Station zu Neapel. 1882. Heft 3. S. 373.

†) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 422.

††) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 480.

mit Schwefelwasserstoff zersetzt und die von Blei befreite Lösung bei sehr mässiger Temperatur verdunstet, die Masse verwandelt sich beim Stehen in Krystalle. Dieselben geben mit überschüssigem Barytwasser ein in feinen Flocken sich ausscheidendes, basisches Barytsalz. Dies wird mit verdünnter Schwefelsäure in ganz geringem Ueberschuss versetzt, das Filtrat bei geringer Wärme eingeengt, mit Alkohol gefällt und erst im Vacuum, dann bei 98° getrocknet.

Sehr verschiedene Substanzen, Nitrotoluol (Jaffé) und Phenetol (Kossel), Thieren eingegeben scheinen die Bildung gepaarter Glycuronsäuren im Harne hervorzurufen.

Die nach dem Eindampfen mit etwas Alkohol versetzte Säure bildet in manchen Fällen schöne Krystalle, welche das Anhydrid der Glycuronsäure $C_6H_8O_6$ darstellen. Ein Barytsalz von der Zusammensetzung $(C_6H_9O_7)_2Ba$ wurde gleichfalls analysirt.

Die Glycuronsäure ist sehr leicht zersetzlich, in wässriger Lösung auf dem siedenden Wasserbade eingedampft zersetzt sie sich allmälig vollständig, in sauren Lösungen ist sie beständiger als in alkalischen. In alkalischer Lösung reducirt sie Kupferoxyd, Wismuthoxyd, Silberoxyd u. s. w. wie Traubenzucker. Sie dreht die Polarisationsebene ungefähr halb so stark nach rechts wie Traubenzucker.

Zu ihrem Nachweis ist Darstellung und Analyse erforderlich.

Eine chlorhaltige, Silberoxyd und Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirende Substanz fand Salkowski*) im Harne von Kaninchen, die benzoesaures Natron erhalten hatten.

Stickstoffhaltige organische Substanzen.

Harnstoff CH_4N_2O.

97. Der Harnstoff ist der constanteste Bestandtheil des Harns von Menschen, Säugethieren und nackten Amphibien. Im normalen Blute von Säugethieren sowie in Transsudaten, humor aqueus, Lymphe, findet er sich in Spuren und häuft sich bei gehinderter Ausscheidung durch die Nieren nicht allein in diesen Flüssigkeiten an, sondern findet sich dann auch in den verschiedenen Secreten des Darmkanals und den Muskeln.

Der Harnstoff wird künstlich dargestellt aus cyansaurem Kali, welches man durch Zusammenschmelzen von Cyankalium mit Blei-

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 135.

oxyd erhält, indem man mit schwefelsaurem Ammoniak das cyansaure Kali in wässeriger Lösung zersetzt, zur Trockne abdampft, den Rückstand mit absolutem Alkohol auszieht, filtrirt, zum Syrup abdampft und krystallisiren lässt.

J. Williams*) empfiehlt zunächst cyansaures Blei darzustellen, und dies mit schwefelsaurem Ammoniak zu zerlegen.

Man kennt noch zahlreiche andere Bildungsweisen des Harnstoffs, kennt aber seine Entstehungsweise im thierischen Körper nicht. Aus dem Hundeharn gewinnt man ihn am Einfachsten durch Abdampfen zum Syrup, Extraction desselben mit Alkohol, Abdampfen des filtrirten Alkoholextractes zum Syrup, Krystallisirenlassen desselben und Abwaschen der ausgeschiedenen Krystallmasse mit wenig Alkohol zur Entfernung der Extractivstoffe. Man löst die Krystalle dann in absolutem Alkohol, filtrirt und verdunstet zur Krystallisation.

Statt dessen kann man den auf ein kleines Volumen abgedampften Menschenharn auf 0° erkaltet mit starker Salpetersäure im Ueberschusse fällen, den Niederschlag abfiltriren, auspressen, in Wasser zertheilen, kohlensauren Baryt eintragen, so lange Aufbrausen erfolgt, dann zur Trockne abdampfen, den Rückstand mit absolutem Alkohol extrahiren, filtriren und das Filtrat zum Syrup verdunsten; beim Stehen in der Kälte krystallisirt der Harnstoff.

Der Harnstoff bildet meist sehr dünne, lange, vierseitige, oft innen hohle Prismen mit sehr stumpfer Pyramide an den Enden, von der gewöhnlich nur eine oder zwei Flächen gut ausgebildet sind. Die Krystalle gehören dem rhombischen Systeme zu, sind nicht hygroskopisch und wasserfrei, können ohne Zersetzung auf 120° erhitzt werden; steigert man die Temperatur noch höher, so schmelzen sie und zersetzen sich. In heissem Wasser löst sich der Harnstoff in jedem Verhältnisse. Ein Gewichtstheil Harnstoff löst sich in einem Gewichtstheile kalten Wasser oder siedenden Alkohol, nur in 5 Theilen kaltem Alkohol, in Aether ist er unlöslich, entzieht aber demselben Wasser, wenn er wasserhaltig war, und zerfliesst damit.

Verbindungen und Zersetzungen des Harnstoffs.

98. Der Harnstoff verbindet sich mit vielen Säuren zu krystallisirbaren Salzen und ebenso mit einigen Basen. Eine nicht unter

*) Chem. Centralbl. 1868. No. 36.

10 pCt. Harnstoff enthaltende, genügend kühlgehaltene Lösung giebt mit überschüssiger concentrirter Salpetersäure einen blättrig krystallinischen Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff. Durch Fällung der concentrirten Harnstofflösung mit Oxalsäurelösung erhält man einen ähnlichen krystallinischen Niederschlag von oxalsaurem Harnstoff. Erwärmt man Harnstofflösung mit Quecksilberoxyd, so erhält man Verbindung beider.

Der Harnstoff krystallisirt gern mit Alkalisalzen zusammen aus Lösungen, die beide enthalten; besonders häufig erhält man durch Abdampfen von Harn zum Syrup und Stehenlassen Krystalle von Harnstoff-Chlornatrium in rhombischen Tafeln oder Prismen, welche aus CH_4N_2O. $NaCl + H_2O$ bestehen. Beim Umkrystallisiren zerfallen diese Verbindungen leicht. Mehrere Salze, die in Alkohol unlöslich sind, lösen sich etwas in alkoholischer Harnstofflösung, z. B. Ferrocyankalium, schwefelsaures Kali.

Der salpetersaure Harnstoff CH_4N_2O, NHO_3

bildet bei schneller Ausscheidung mikroskopische, meist sehr dünne rhombische oder sechsseitige Tafeln, die meist mehrfach zusammengehäuft erscheinen. Grosse und dicke Krystalle erhält man, wenn man Salpetersäure-Aethyläther durch Destillation von Alkohol mit starker Salpetersäure und Harnstoff darstellt und den Rückstand, welcher in der Retorte bleibt, aus Wasser umkrystallisirt. Er bildet dann dickere bis $^1/_2$ Zoll breite sechsseitige Tafeln oder Säulen des rhombischen Systems. Die rhombischen Tafeln zeigen einen Kantenwinkel von 82°. Dieses Salz ist schwer löslich in kalter Salpetersäure, leichter löslich in kaltem, viel leichter in heissem Wasser, wenig löslich in Alkohol, unlöslich in Aether; schnell erhitzt verpufft es ohne Rückstand, allmälig auf 140° erwärmt zerlegt es sich in salpetersaures Ammoniak, Harnstoff, Stickoxydul, Kohlensäure, ebenso allmälig beim Kochen der wässerigen, stark sauer reagirenden Lösung.

Oxalsaurer Harnstoff $(CH_4N_2O)_2C_2H_2O_4 + H_2O$.

Durch Fällung von Harnstofflösung mit Oxalsäure erhalten, bildet rhombische Tafeln, die leichter gross und dick zu erhalten sind als die Krystalle des salpetersauren Salzes. Der oxalsaure Harnstoff ist schwer löslich in kaltem Wasser, noch schwerer in kaltem Alkohol (1 Theil in 62 Theilen Alkohol), leicht löslich in kochendem Wasser.

Phosphorsaurer Harnstoff CH_4N_2O, PH_3O_4

ist von J. Lehmann in grossen glänzenden Krystallen des rhombischen Systems aus Phosphorsäure und Harnstoff dargestellt, auch aus dem abgedampften Harne mit Kleie gefütterter Schweine erhalten. Die Krystalle sind in Wasser sehr leicht löslich, aber nicht zerfliesslich.

Verbindungen von Harnstoff mit Salpetersäure und Quecksilberoxyd.

Durch Mischung einer wässerigen Lösung von Harnstoff mit salpetersaurem Quecksilberoxyd kann man drei verschiedene Verbindungen von Harnstoff, Salpetersäure und Quecksilberoxyd darstellen, in denen Harnstoff und Salpetersäure stets zu gleichen Atomen mit verschiedenen Mengen Quecksilberoxyd verbunden sind. Liebig hat diesen drei Verbindungen Formeln gegeben, nach denen die eine Verbindung 4, die zweite 3, die dritte nur 2 Aequivalente Quecksilber auf 1 Aequivalent Harnstoff enthält. Nach Liebig erhält man das 4 Aequivalente Quecksilber enthaltende Salz durch Hinzufügen überschüssiger sehr verdünnter Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd zur gleichfalls verdünnten Harnstofflösung; diese Verbindung bildet Körner, welche aus radial gestellten Nadeln bestehen. Die 3 Aequivalente Quecksilber enthaltende Verbindung erhält man durch Fällung einer Harnstofflösung mit verdünnter Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd, indem man die letztere so lange hinzufügt, als sich noch ein Niederschlag bildet. Lässt man den Niederschlag an einem 40 bis 50° warmen Orte stehen, so verwandelt er sich grösstentheils in sechsseitige Tafeln, welche diese Zusammensetzung zeigen. Die Verbindung, welche 2 Aequivalente Quecksilber enthält, bekommt man durch Eintragen einer Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd, bis eine Trübung sich zu zeigen beginnt. Man filtrirt die letztere ab, beim Stehen des Filtrates setzen sich dann krystallinische Krusten von kleinen rechtwinkligen zusammengehäuften Tafeln ab, welche die obige dritte Verbindung darstellen. Alle drei geschilderte Verbindungen sind weisse Niederschläge, die in Wasser zertheilt durch anhaltenden Strom Schwefelwasserstoffgas zerlegt werden in sich abscheidendes Schwefelquecksilber und gelösten salpetersauren Harnstoff; durch Verdunstenlassen der abfiltrirten Lösung kann man dann dies letztere Salz isolirt erhalten.

Eine Verbindung von Harnstoff mit Palladiumchlorür $PdCl_2 + 2CH_4N_2O$ unlöslich in Alkohol, schwer löslich in Wasser ist von Drechsel*) beschrieben.

Zersetzung des Harnstoffs.

Trocken erhitzt schmilzt der Harnstoff und liefert Biuret und Ammoniak, Cyansäure etc.; erhitzt man feuchten Harnstoff, so schmilzt er und zerlegt sich zu Kohlensäure und Ammoniak hauptsächlich. Längeres Kochen seiner wässerigen Lösung zersetzt ihn gleichfalls allmälig zu kohlensaurem Ammoniak, durch Kochen mit ätzenden oder kohlensauren Alkalien wird er schnell in dieser Weise zerlegt; Kalkmilch wirkt nicht stark beim Kochen, in der Kälte gar nicht auf den Harnstoff ein.

Erhitzt man Harnstoff mit Wasser im zugeschmolzenen Glasrohre auf 180°, so zerfällt er ganz in Kohlensäure und Ammoniak. Kochen des Harnstoffs mit starker Schwefelsäure und schliessliches Erhitzen bis 190° hat dieselbe Zerlegung zur Folge, endlich zeigt der Harnstoff diese Zersetzung unter der Einwirkung von Fermenten, welche sich im faulenden Harne oder im Harne bei Blasencatarrh finden.

Durch salpetrige Säure wird Harnstoff in Kohlensäure, Wasser und Stickstoff, durch feuchtes Chlorgas oder Lösungen unterchlorigsaurer Salze in Kohlensäure, Chlorwasserstoff und Stickstoff zersetzt. In concentrirter Lösung mit salpetersaurem Silber versetzt, stark eingedampft, zerlegt sich Harnstoff in cyansaures Silber und salpetersaures Ammoniak.

Trennung und Nachweis des Harnstoffs.

99. Die oben angegebenen Darstellungsweisen genügen in den meisten Fällen, um Harnstoff aus Harn oder anderen Flüssigkeiten, in denen derselbe nicht blos in Spuren sich findet, zu gewinnen, insbesondere ist die zweite angegebene Methode in § 98. (Fällung mit Salpetersäure) wohl geeignet, Trennung von den meisten übrigen Körpern zu erreichen. Ist der Harn oder die zu untersuchende Flüssigkeit eiweisshaltig, so extrahirt man den eingeengten Flüssigkeitsrückstand zunächst mit Alkohol, filtrirt, verdunstet den Alkohol, fällt mit Salpetersäure im Ueberschusse, lässt einige Stunden kalt stehen,

*) Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 20. S. 469.

filtrirt, presst die Krystallmassen aus und zerlegt sie durch kohlensauren Baryt, so wie es oben § 97 angegeben ist.

Um sehr geringe Mengen von Harnstoff in Flüssigkeiten wie Blut, Galle, Milch oder in Organen aufzufinden und möglichst quantitativ zu bestimmen, sind sehr verschiedene Methoden vorgeschlagen und in Anwendung gezogen, haben jedoch alle ungenügende Resultate gegeben. Folgendes Verfahren, welches bezweckt, den Harnstoff selbst in reinem Zustande zu gewinnen, möchte wohl am Besten zum Ziele führen.

Die nöthigenfalls bei mässiger Wärme etwas eingeengte Flüssigkeit oder das zu untersuchende, frische, schnell zerkleinerte Organ oder frisches Blut werden mit dem 3 bis 4fachen Volumen starken Alkohol gut gemischt und 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen, dann abfiltrirt und der Rückstand mit Alkohol mehrmals gewaschen. Von dem gesammten Filtrat wird der grössere Theil des Alkohols abdestillirt, nach dem Erkalten mit Essigsäure stark angesäuert, Chloroform hinzugegossen, damit gut geschüttelt, im Scheidetrichter beide Flüssigkeiten getrennt, die Chloroformlösung mit Wasser gewaschen und die Waschflüssigkeit mit der übrigen alkoholisch-wässrigen Lösung vereinigt. Durch das Chloroform werden das den Filtrationen sehr hinderliche Lecithin und Seifen entfernt, ausserdem Fette und Cholesterin aufgenommen. Die wässrig alkoholische Lösung wird nun durch Abdampfen bei mässiger Wärme von Alkohol befreit, mit Schwefelsäure nach dem Erkalten stark sauer gemacht, dann mit Phosphorwolframsäure gefällt, so lange Niederschlag entsteht und hierdurch Pepton, Kreatinin und etwa vorhandene andere Basen gefällt. Der Niederschlag wird noch einige Male mit schwefelsäurehaltigem Wasser gewaschen, dann die vereinigten Filtrate mit Barytwasser übersättigt, der Ueberschuss durch einen Strom CO_2 abgeschieden, filtrirt und auf kleineres Volumen bei mässiger Wärme abgedampft, dann mit salpetersaurem Quecksilberoxyd der Harnstoff abgeschieden in der Weise der Harnstofftitrirung, indem aber statt Natriumcarbonat zum Sättigen der freiwerdenden Salpetersäure ein feinzerriebener Brei von Bariumcarbonat in kleinen Portionen dient und die Flüssigkeit bis zum Ende schwach sauer erhalten wird. Schliesslich wird mit ein Paar Tropfen Barytwasser fast gesättigt, aber nicht alkalisch gemacht, der Niederschlag abfiltrirt, einige Male mit kleinen Mengen Wasser gewaschen, mit dem Filter in etwas Wasser zertheilt und mit Schwefelwasserstoff das Quecksilber abge-

trennt. Die Lösung soll jetzt ausser vielleicht etwas salpetersaurem Baryt nur salpetersauren Harnstoff enthalten. Sie wird auf dem Wasserbade erwärmt zur Austreibung des Schwefelwasserstoff, dann Bariumcarbonat hinzugefügt und gänzlich bei mässiger Wärme verdampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahirt und filtrirt. Beim Verdampfen der alkoholischen Lösung soll Harnstoff krystallisirt erhalten werden.

Die alleinige Benutzung der Fällung durch Quecksilbernitrat nach den Methoden von Picard und von Meissner geben ganz unbrauchbare Werthe, die Vereinigung der Quecksilberfällung mit der Bunsenschen Methode der Ueberführung des Harnstoffs in CO_2 und NH_3 durch Erhitzen auf 200° und Bestimmung der gebildeten CO_2, die nach dem Vorgange von Wurtz, Treskin, Munk, Pekelharing neuerdings viel benutzt ist, kann gleichfalls richtige Werthe, wie ich mich überzeugt habe, nicht geben, weil durch das salpetersaure Quecksilber selbst nach vorhergehender Fällung mit Bleiessig oft reichlich Stoffe gefällt werden, die beim Erhitzen mit ammoniakalischer Barytlösung auf 200° CO_2 bilden, aber kein Harnstoff sind.

Zum Nachweis, dass eine vorliegende Substanz mit Harnstoff identisch ist, können folgende Proben dienen:

1) Ein Krystall Harnstoff oder ein Tropfen hinreichend concentrirter Lösung desselben auf dem Objectträger mit ein oder 2 Tropfen mässig verdünnter Salpetersäure versetzt, geben die rhombischen oder sechsseitigen Krystalltafeln des salpetersauren Harnstoffs.

2) Metallisches Quecksilber mit etwas Harnstofflösung und einigen Tropfen Salpetersäure schwach erwärmt, geben Entwickelung farbloser Gase, nämlich CO_2 und N_2.

3) Trockne Harnstoffkrystalle im trocknen Probirrohr über kleiner Flamme vorsichtig zum Schmelzen erhitzt und darin erhalten, bis die Masse wieder fest wird, geben Biuret, welches nach dem Erkalten mit etwas Natronlauge und einem Tropfen Kupfersulfatlösung Rothfärbung der Lösung bewirkt.

4) Ein Harnstoffkrystall mit einem Tropfen fast gesättigter wässriger Lösung von Furfurol übergossen und dann sogleich mit einem Tropfen Salzsäure von ungefähr 1,1 spec. Gew versetzt, giebt Farbenänderung von Gelb in Grün, Blau, Violet bis prachtvoll Purpurroth. Ein Tropfen einer einprocentigen Harnstofflösung mit $\frac{1}{2}$ CC. Furfurolwasser und 3 Tropfen Salzsäure giebt nach 5 Minuten noch intensive

Färbung. Im Harne ist die Färbung nicht rein. Allantoin giebt die gleiche Reaction, aber weniger intensiv und langsamer*).

Carbaminsäure CH_3NO_2.

100. Die Carbaminsäure im freien Zustande nicht bekannt, in Verbindung mit Ammoniak durch Einwirkung von trocknem Ammoniak auf trockne Kohlensäure entstehend $CO_2 + 2NH_3 = NH_2CO_2 \cdot NH_4$, ist im Blute von Drechsel**) zuerst nachgewiesen und ausserdem ihre Bildung bei der Einwirkung von übermangansaurem Kali auf verschiedene stickstoffhaltige organische Körper erkannt. Das carbaminsaure Ammoniak bildet eine weisse Krystallmasse, leicht löslich in Wasser, aber in dieser Lösung unter Wasseraufnahme bald theilweise sich umwandelnd zu kohlensaurem Ammoniak. Carbaminsaurer Kalk wird dargestellt durch Einleiten von CO_2 in starkes wässriges Ammoniak und Zusatz von Kalkmilch in kleinen Portionen, bis man auch bei heftigem Schütteln keine weitere Lösung mehr wahrnimmt, sondern eine Ausscheidung von Krystallen beginnt. Man lässt dann etwas absitzen, filtrirt direct in das etwa gleiche Volumen auf 0° abgekühlten absoluten Alkohol. Sofort entsteht dabei ein dicker amorpher Niederschlag, der nach einiger Zeit krystallinisch wird. Man bringt ihn dann in eine weite Glasröhre, in der sich ein Filter von Glaswolle und Quarzsand befindet, wäscht einmal mit einer Mischung von gleichen Volumina Alkohol und starker Ammoniaklösung, dann mit absolutem Alkohol, endlich mit absolutem Aether und trocknet endlich durch einen durchgeleiteten starken trocknen Luftstrom. Das erhaltene krystallinische Pulver besteht aus meist mikroskopischen flachen Prismen, dem Gyps ähnlich. Seine Zusammensetzung ist $2(NH_2 \cdot CO_2)_2Ca + H_2O$. Beim Erhitzen zersetzt sich das Salz mit seinem Krystallwasser in Calciumcarbonat und carbaminsaures Ammoniak, während die Hälfte des carbaminsauren Kalk trocken übrig bleibt und beim weiteren Erhitzen erst in der Glühhitze in Calciumcyanamid, Wasser und CO_2 zerlegt wird $(NH_2, CO_2)_2Ca = CaCN_2 + 2H_2O + CO_2$. Durch Säuren wird carbaminsaurer Kalk unter Aufbrausen schnell zersetzt. In Wasser löst sich das Calciumsalz klar auf, aber schon nach einer halben Minute erfolgt Trübung und es

*) Schiff, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 10. S. 773.

**) Drechsel, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 16. S. 180.

scheidet sich allmälig Calciumcarbonat aus. Ammoniakalische Lösung des Salzes erhält sich um so länger unzersetzt, je concentrirter die Ammoniaklösung ist. Aus einer gesättigten Lösung in warmen Ammoniak scheidet sich beim Erkalten das Salz in schönen 4seitigen Prismen ab. Auch carbaminsaures Kalium- und Natriumsalz ist von Drechsel dargestellt. Trocken erhitzt liefern diese Salze cyansaures Alkali und Wasser $NH_2, CO_2 Na = CNONa + H_2O$; dieselbe Umwandlung erleidet auch die Calciumverbindung, doch wird sie in der Glühhitze weiter zu $CN_2Ca + CO_2$ zerlegt.

Der Nachweis der Carbaminsäure gründet sich im Wesentlichen auf die Eigenschaften des Calciumsalzes.

Eiweissstoffe bei gewöhnlicher Temperatur mit überschüssigem Kaliumpermanganat behandelt, geben sehr reichlich carbaminsaures Salz.

Schwefelcyansäure CNSH.

101. Schwefelcyansäure, auch Rhodanwasserstoff genannt, ist seit langer Zeit als Bestandtheil des Parotiden- und Submaxillarsecret sehr vieler, aber nicht aller Menschen bekannt, und ist in neuerer Zeit auch im normalen Harne von Menschen und Thieren*) und in der Kuhmilch**) gefunden. Der Gehalt dieser Flüssigkeiten an Schwefelcyanverbindung ist stets gering. Künstlich stellt man die Alkaliverbindung dar durch Schmelzen von Cyankalium mit Schwefel oder durch Einwirkung von Schwefelammonium auf Blausäure oder durch Verdampfen von Schwefelkohlenstoff, Alkohol und concentrirter Ammoniakflüssigkeit.

Die Verbindungen der Schwefelcyansäure mit Kalium, Natrium, Ammonium sind in Wasser oder Alkohol leicht löslich, farblos, leicht zerfliesslich. Die Lösungen derselben geben mit salpetersaurem Silber einen weissen käsigen Niederschlag, der in verdünnter Salpetersäure unlöslich, in Ammoniak schwer löslich ist. Mit Eisenchlorid geben sie intensiv blutrothe Färbung der Flüssigkeit, die durch starke Salzsäure nicht verändert wird. Mit Zink und Salzsäure zersetzen sie sich unter Entwickelung von SH_2. Eine Mischung von Eisenvitriol und Kupfervitriol fällt aus saurer oder neutraler Lösung die Schwefel-

*) J. Munk, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 69. und Gscheidlen, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 14. S. 401.

**) Musso, Maly, Jahresbericht f. 1877. S. 168.

cyansäure in Verbindung mit Kupfer im Oxydulzustand als feines weisses Pulver.

Der Nachweis der Schwefelcyanverbindungen geschieht am Besten durch ihr Verhalten gegen Eisenchlorid. Zur quantitativen Bestimmung dienen besonders die Fällung mit salpetersaurem Silber in der mit Salpetersäure angesäuerten Lösung, Auswaschen des Niederschlags, Schmelzen nach dem Trocknen mit Salpeter und Soda und Bestimmung der hierbei gebildeten Schwefelsäure durch Fällung der wässrigen Lösung der Schmelze nach Ansäuern mit Salpetersäure durch Chlorbarium. Auch die Intensität der Färbung der Flüssigkeiten nach Zusatz von Eisenchlorid und Salzsäure hat man zu einer colorimetrischen Bestimmung benutzt.

Einen Körper von der Zusammensetzung $C_3H_8N_2O$, der in kaltem Wasser oder Weingeist schwer, in heissem Wasser leicht löslich, in absolutem Alkohol oder Aether unlöslich ist, in weissen, der Hippursäure ähnlichen Formen krystallisirt, bei 250° schmilzt, mit Säuren leicht lösliche Salze liefert und mit salpetriger Säure behandelt eine Milchsäure giebt, deren Zinksalz 12,6 pCt. Krystallwasser enthält, hat Baumstark*) im Hunde- und im Menschenharn gefunden.

Sarkin oder Hypoxanthin $C_5H_4N_4O$.

102. Das Hypoxanthin oder Sarkin wurde in geringen Quantitäten im Safte der Milz, Muskeln, Leber, Knochenmark, im leukämischen Blute, auch dem leukämischen Harne meist in Begleitung noch geringerer Quantitäten von Xanthin gefunden. Salomon**) erkannte Hypoxanthin als regelmässigen Bestandtheil des Knochenmarks und des Leichenblutes, während er im Aderlassblute es nicht auffand. Von Kossel***) wurden die engen Beziehungen des Hypoxanthin zum Nuclein entdeckt; er stellte es zunächst aus dem Nuclein der Hefe, dann der Eiterzellen, dann aus dem Nuclein der kernhaltigen rothen Blutkörperchen der Vögel durch längeres Kochen mit Wasser oder mit verdünnten Säuren dar und gewann aus Leber, Milz, Muskeln, Nieren u. s. w. viel bedeutendere Quantitäten beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, als man ohne diese Behandlung in diesen Organen gefunden hatte. Auch aus Ameiseneiern, Weizenkleie, Sporen

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 173. S. 342.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2. S. 65.; Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 11. S. 574. Bd. 12. S. 95. Bd. 13. S. 1160.

***) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 152 und S. 267.

von Lycopodium wurde von ihm Hypoxanthin dargestellt. Von Salomon war aus Fibrin, aus keimenden Samen Hypoxanthin erhalten, welches ohne Zweifel aus Nuclein herstammte.

Hinsichtlich der Darstellung des Hypoxanthin vergl. unten den Weg der Aufsuchung in den Flüssigkeiten der Organe u. s. w.

Das Sarkin bildet farblose, mikroskopische, sehr feine Nadeln, löst sich in 300 Theilen kaltem, in 78 Theilen siedendem Wasser, fast gar nicht in Alkohol. Leicht löslich ist es in selbst verdünnten Alkalilaugen, Aetzammoniak und verdünnten Mineralsäuren. Auch in concentrirter Salpetersäure oder Schwefelsäure wird es leicht gelöst. Es verbindet sich mit Basen, Säuren und Salzen zu theilweise gut krystallisirenden Verbindungen. In verdünntem Barytwasser gelöst giebt das Sarkin bei Zusatz von concentrirter Barytlösung einen krystallinischen Niederschlag $C_5H_4N_4O, Ba(HO)_2$. Durch salpetersaures Silberoxyd sowie durch essigsaures Kupferoxyd werden wässerige Sarkinlösungen gefällt. Der durch Silberlösung bewirkte Niederschlag $C_5H_4N_4O, NAgO_3$ ist in verdünnter Salpetersäure unlöslich, in heisser starker Salpetersäure wird er gelöst und fällt beim Erkalten in Krystallschuppen nieder. Kocht man den Niederschlag mit ammoniakalischer Lösung von salpetersaurem Silberoxyd, so erhält man einen gelatinösen Niederschlag von $C_5H_4N_4O, Ag_2O$. Ammoniakalische Lösung des Sarkin giebt mit salpetersaurem Silber denselben Niederschlag; diese Fällung wird verhindert, wenn sich Leim oder Pepton von Eiweissstoffen in dieser Lösung befinden, dagegen hindern Glycogen, Zucker u. dergl. die Fällung nicht. Auch die Verbindungen des Sarkin mit Zinkoxyd, Quecksilberoxyd sind in Wasser unlöslich. Durch Fällung mit essigsaurem Kupferoxyd erhält man Sarkinkupferoxyd als graubraunen Niederschlag. Durch basisch essigsaures Blei wird reines Sarkin nicht gefällt. Löst man Sarkin in wenig siedender concentrirter Salzsäure, so scheidet sich beim Erkalten salzsaures Sarkin in perlmutterglänzenden Tafeln ab, welche die Zusammensetzung $C_5H_4N_4O, HCl$ besitzen. Löst man diese in heissem Wasser und fügt Platinchlorid hinzu, so erhält man beim Erkalten Krystalle eines Doppelsalzes $2(C_5H_4N_4O, HCl) + PtCl_4$. Verdampft man eine Lösung von Sarkin in Salpetersäure vorsichtig zur Trockne, so bleibt ein farbloser Rückstand, der in Kalilauge ohne Färbung gelöst wird.

Zur Darstellung sowie zum Nachweis von Sarkin folgt man am

Besten der von Neubauer*) angegebenen Methode, welche unten bezüglich der quantitativen Bestimmung von Bestandtheilen der Muskeln beschrieben ist.

Carnin $C_7H_8N_4O_3$.

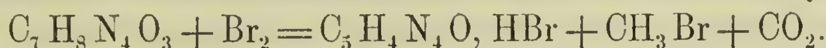
103. Das Carnin wurde von Weidel**) im amerikanischen Fleischextracte gefunden und dargestellt durch Fällung der wässerigen Lösung des Extracts zunächst mit Barytwasser, so lange Niederschlag entsteht, dann mit Bleiessig, Behandlung des Bleiessigniederschlags nach dem Abfiltriren mit kochendem Wasser, Filtriren, Einleiten von SH_2 in die heisse Carninbleioxydlösung, Abfiltriren des Schwefelblei, Eindampfen der abfiltrirten Flüssigkeit auf kleines Volumen und Erkaltenlassen. Das Carnin scheidet sich zuweilen schon als krümlicher noch sehr gefärbter Krystallschlamm aus. Die Flüssigkeit wird dann mit einer concentrirten Lösung von Silbersalpeter gefällt, so lange Niederschlag erfolgt, aus dem mit Wasser gewaschenen Niederschlag, welcher Chlorsilber und Carninsilberoxyd enthält, durch nicht zu viel Ammoniakflüssigkeit das Chlorsilber gelöst und das Carninsilberoxyd in heissem Wasser zertheilt mit SH_2 behandelt, heiss filtrirt. Das eingedampfte Filtrat liefert das Carnin noch gefärbt. Beim Entfärben mit Thierkohle bleibt ein Theil des Carnin in der Thierkohle zurück. Das benutzte Fleischextract enthielt ungefähr 1 pCt. Carnin.

Das Carnin bildet kreideweisse, feine und unregelmässig begrenzte krystallinische Massen, löst sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser, ist nicht löslich in Alkohol oder Aether. Die wässerige Lösung reagirt neutral, wird nicht gefällt durch neutrales essigsaures Blei, wohl aber von basischem Bleiacetat, wenn die Lösung nicht neutrales Bleisalz enthält. Eine Lösung von Carnin in warmer starker Salzsäure liefert beim Erkalten bald glasglänzende Nadeln von salzsaurem Carnin, löst man diese Nadeln in warmem Wasser, so scheiden sie sich zuerst als schlammiger Niederschlag aus, der allmälig wieder jene Nadeln liefert. Lösung von Platinchlorid mit salzsaurem Carnin stehen gelassen giebt goldgelbes Krystallpulver, nach Weidel $C_7H_8N_4O_3, HCl, PtCl_4$. Salpetersaures Silber fällt Carnin flockig

*) Fresenius, Zeitschr. f. analyt. Chem. Jahrg. 6.

**) Ann. Chem. Pharm. Bd. 158. S. 353.

weiss, der Niederschlag ist unlöslich in Salpetersäure und in Ammoniak und besteht aus $2(C_7H_7AgN_4O_3) + AgNO_3$ mit 41,82 pCt. Silbergehalt. Durch Kochen mit Barytwasser wird Carnin nicht zersetzt, auch nicht beim Erhitzen mit concentrirtem Jodwasserstoff. Behandelt man aber eine heisse Lösung von Carnin mit gesättigtem Bromwasser, so zeigt sich unter Entfärbung Gasentwickelung und nach überschüssig zugesetztem Bromwasser erhält man nach dem Abdampfen und Erkalten bromwasserstoffsaures Sarkin als weisses Krystallmehl.



$$C_7H_8N_4O_3 + Br_2 = C_5H_4N_4O, HBr + CH_3Br + CO_2.$$

Erwärmt man eine kleine Menge von Carnin mit frischem Chlorwasser und einer Spur Salpetersäure, verdampft nach dem Aufhören der Gasentwickelung auf dem Wasserbade und bringt den weissen Rückstand unter einer Glasglocke in eine Ammoniakatmosphäre, so färbt er sich in kurzer Zeit dunkelrosenroth, ebenso wie es oben vom Sarkin beschrieben ist.

Xanthin $C_5H_4N_4O_2$.

104. Schon 1819 in einem Blasensteine vom Menschen gefunden, blieb das Xanthin, auch Xanthicoxyd genannt, da es sich nur äusserst selten in menschlichen Blasensteinen fand, sehr wenig untersucht. Jetzt kennt man es als constanten Bestandtheil des menschlichen Harns, sein Vorkommen in der Leber, in der Milz, im Pancreas, Thymus, Gehirn, auch im Muskelfleische von Säugethieren und Fischen ist jetzt unzweifelhaft, doch findet es sich stets nur in geringen Quantitäten. Künstlich ist es durch Einwirkung von Untersalpetersäure auf Guanin dargestellt.

Das Xanthin bildet im reinen Zustande ein farbloses Pulver, welches beim Reiben Wachsglanz annimmt. In Wasser ist es sehr wenig löslich. Nach Almén*) löst sich 1 Theil Xanthin bei 16° in 14151 Theilen, bei 100° in 1300 bis 1500 Theilen Wasser. In Alkohol oder Aether ist es unlöslich. In Alkalilauge, auch in Ammoniak löst es sich leicht, beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung scheidet sich das Xanthin in Gruppen von Krystallblättchen aus. Auch in Säuren löst sich Xanthin, das salzsaure Xanthin bildet kleine Prismen, die sich mit Wasser zersetzen, auch das schwefelsaure Salz

*) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 96. S. 98.

verliert Schwefelsäure bei der Behandlung mit Wasser. Nach Bence Jones ist das Xanthin in verdünnter Salzsäure ziemlich löslich, besonders beim Erwärmen. Die concentrirte Lösung von Xanthin in Ammoniak wird von ammoniakalischer Lösung von salpetersaurem Silber gefällt. Der gallertig flockige Niederschlag hat die Zusammensetzung $C_5H_4N_4O_2$, Ag_2O. In heisser Salpetersäure löst sich dieser Niederschlag und scheidet sich beim Erkalten, wenn die Lösung verdünnt ist, nur sehr langsam das salpetersaure Xanthinsilberoxyd $C_5H_4N_4O_2$, $AgNO_3$ aus. Die leichtere Löslichkeit dieser Verbindung in heisser Salpetersäure, langsame Ausscheidung beim Erkalten und die beim Auswaschen derselben mit Wasser eintretende Zersetzung unterscheiden das Xanthin vom Sarkin, dessen salpetersaure Silberverbindung sonst grosse Aehnlichkeit mit der des Xanthin zeigt.

Die ammoniakalische Lösung des Xanthin wird durch Chlorzink oder Chlorcalcium oder essigsaures Bleioxyd gefällt.

Wird Xanthinblei $C_5H_2N_4O_2Pb$ mit Jodmethyl bei 100° digerirt, so erhält man Theobromin und die Silberverbindung des letzteren mit Jodmethyl behandelt, giebt Coffein; das Theobromin ergiebt sich hiernach als Dimethylxanthin und das Coffein als Trimethylxanthin. Diese beiden substituirten Xanthine geben ebenso wie das Xanthin selbst bei der Behandlung mit Salzsäure und chlorsaurem Kali Alloxan resp. seine Methylderivate, während Guanin hierbei neben CO_2 und Parabansäure Guanidin liefert*).

Die wässerige Lösung wird durch essigsaures Kupferoxyd erst beim Kochen in gelbgrünen Flocken gefällt, durch Quecksilberchlorid schon bei gewöhnlicher Temperatur, noch bei 30000facher Verdünnung entsteht Trübung. Mit Salpetersäure abgedampft giebt eine Probe Xanthin einen gelben Rückstand, der durch Natronlauge roth und dann beim Erhitzen purpurroth gefärbt wird.

Bringt man in einem Uhrglase in Natronlauge etwas Chlorkalk, rührt um und trägt eine Probe Xanthin ein, so bildet sich um die Körnchen desselben zuerst ein dunkelgrüner, bald sich braunfärbender Hof, der dann wieder verschwindet.

Zur Aufsuchung des Xanthin in Harnsteinen dienen hauptsächlich folgende Eigenschaften desselben: 1) Die Löslichkeit in Aetzammoniak. 2) Das Verhalten gegen Salpetersäure beim Abdampfen zur

*) E Fischer, Ber d. chem. Gesellsch. Bd. 15. S 453.

Trockne und beim nachherigen Zusatze von Alkalilauge. 3) Das Verhalten gegen Natronlauge und Chlorkalk. Zur Bestätigung dient das Verhalten gegen salpetersaures Silberoxyd in der salpetersauren sowie in der ammoniakalischen Lösung. Zur Trennung von Sarkin behandelt man entweder beide mit concentrirter Salzsäure und dann mit Wasser, das salzsaure Sarkin löst sich viel leichter in Wasser auf, ebenso das salzsaure Guanin als die Xanthinverbindung, oder man trennt Sarkin von Xanthin nach der Methode von Neubauer, vergl. unten Untersuchung der Muskeln.

Steine, welche Xanthin enthalten, scheinen stets fast allein aus diesem Stoffe gebildet zu sein.

Um aus thierischen Organen Xanthin zu erhalten, verfuhr Staedeler wie folgt: Die zerhackten, mit Glaspulver zerriebenen Organe wurden mit Weingeist zum dünnen Brei angerührt, erwärmt und ausgepresst. Der Rückstand wird hierauf einige Stunden lang mit Wasser von 50° digerirt, die abgepresste Flüssigkeit mit dem weingeistigen Auszuge vereinigt. Der Weingeist wird dann abdestillirt, das ausgeschiedene Albumin durch Filtration entfernt und das möglichst weit abgedampfte Filtrat erst mit Bleizuckerlösung, dann mit Bleiessig, endlich nach mehrstündigem Stehen mit essigsaurem Quecksilberoxyd gefällt. Der Bleiessig und Quecksilberniederschlag werden in Wasser zertheilt, durch Schwefelwasserstoff Blei und Quecksilber gefällt, filtrirt und die Filtrate eingedampft, Sarkin und Xanthin von einander durch Behandlung des Rückstandes mit etwas verdünnter Salzsäure getrennt, das Xanthin bleibt zurück.

Aus Harn wurde Xanthin von Neubauer*) auf folgendem Wege erhalten. Mindestens 100 bis 200 Pfund Harn werden am Besten im Wasserbade auf $^1/_6$ bis $^1/_8$ des ursprünglichen Volumens abgedampft, durch Barytwasser die Phosphorsäure abgeschieden, filtrirt und zum Herauskrystallisiren der Salze weiter eingeengt. Die abgegossene Mutterlauge wird mit Wasser verdünnt, essigsaures Kupferoxyd hinzugefügt, zum Sieden erhitzt und einige Zeit dabei erhalten. Der schmutzig braune Niederschlag wird abfiltrirt und mit kaltem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction im Waschwasser abgewaschen. Man löst dann den Niederschlag in warmer Salpetersäure und fällt mit salpetersaurem Silberoxyd das Xanthin, diesen

*) Neubauer und Vogel, Anleitung zur Analyse des Harns. 6. Aufl. S. 24.

Niederschlag löst man in kochender, verdünnter Salpetersäure, filtrirt etwa ungelöst bleibendes Chlorsilber ab; aus der Flüssigkeit scheidet sich beim Erkalten und Stehenlassen allmälig das salpetersaure Xanthin-Silberoxyd ab. Durch Digeriren in Ammoniak nach Zusatz von ein wenig Silbernitrat befreit man den dann abfiltrirten Niederschlag von Salpetersäure, zerlegt das Xanthin-Silberoxyd durch Schwefelwasserstoff, filtrirt kochend und dampft ein. Das Xanthin scheidet sich beim Erkalten der concentrirten Lösung in dunkelgefärbten Flocken ab, welche durch Thierkohle in der salpetersauren Lösung gereinigt werden sollen. Das salzsaure Xanthin soll dann durch Ammoniak zerlegt, zur Trockne abgedampft und der Salmiak durch Waschen mit kaltem Wasser entfernt werden. 600 Pfund Harn lieferten nur etwas über 1 Grm. reines Xanthin*).

Guanin $C_5H_5N_5O$.

105. Schon vor längerer Zeit als hauptsächlicher Bestandtheil der Excremente von Spinnen bekannt, ist das Guanin, welches im Peru-Guano in wechselnder aber nicht bedeutender Menge gefunden wird, neuerdings auch im Pancreas und der Leber von Menschen und Säugethieren und im Fleischextracte aufgefunden, und von Kossel als Zersetzungsproduct von einigen Nucleinen erhalten. Häufig treten körnige Ablagerungen von Guanin in den Muskeln kranker Schweine, ebenso in ihren Gelenken und Bändern auf**). Guaninkalk fand Voit***) als irisirende Krystalle in Fischschuppen und Schwimmblase. Im Retinaepithel von Fischen ist es, nicht mit Calcium verbunden, reichlich gefunden. Die Ophthalmolithen von delle Chiaje in verschiedenen Fischen enthalten Guaninkalk wie die weissen Krystalle der Fischschuppen u. s. w.†).

---

*) E. Duerr und Stromeyer haben mit Quecksilberchlorid das Xanthin aus dem Harne abgeschieden und nach der Trennung vom Quecksilber durch Schwefelwasserstoff mit Bleioxyd, endlich mit salpetersaurem Silber und Salpetersäure behandelt (Ann. Chem. Pharm. 134. S. 48). Die Methode von Neubauer ist einfacher und zuverlässig.

**) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 35. S. 358. u. Bd. 36. S. 147.

***) Zeitschr. f. wiss. Zoolog. Bd. 15. 4. Heft. 1865.

†) Kühne u. Sewall, Untersuchungen a. d. physiol. Institut zu Heidelberg. Thl. 3. S. 221.

Um aus dem Peru-Guano Guanin zu gewinnen, kocht man denselben mit verdünnter Kalkmilch aus, so lange die abfiltrirte Flüssigkeit gefärbt erscheint, kocht mit Sodalösung aus, so lange diese etwas aufnimmt; übersättigt man dann die filtrirte Flüssigkeit mit Essigsäure, so wird das Guanin mit etwas Harnsäure ausgefällt. Der entstandene Niederschlag wird mit verdünnter Salzsäure zum Kochen erhitzt, filtrirt und im Filtrate das Guanin durch Ammoniak gefällt.

Das Guanin bildet ein farbloses, amorphes, in Wasser, Alkohol, Aether, auch in Ammoniak unlösliches Pulver. In Aetzkali oder Natronlauge löst es sich leicht, ebenso in Mineralsäuren, auch in verdünnten. Es verbindet sich sowohl mit Basen als mit Säuren, kann von letzteren mit 1 oder 2 Aequivalenten Verbindungen eingehen und bildet als einfach salzsaures Salz eine Doppelverbindung mit Platinchlorid. Gegen salpetersaures Silberoxyd verhält es sich in der salpetersauren Lösung wie Xanthin und Sarkin, auch das salpetersaure Guanin-Silberoxyd ist in kalter Salpetersäure fast unlöslich, in kochender schwer löslich und scheidet sich beim Erkalten in Krystallnadeln aus.

Durch Untersalpetersäure wird es in Xanthin umgewandelt, dabei bildet sich ein Nitrokörper, der durch Eisenvitriol gleichfalls in Xanthin übergeführt wird.

Durch Salzsäure und chlorsaures Kali wird es zu Kohlensäure, Parabansäure und Guanidin CH_5N_3 zerlegt.

Wenn man Guanin mit rauchender Salpetersäure auf Platinblech abdampft, erhält man einen glänzenden gelben Rückstand, der durch Natron roth gefärbt wird und beim Erhitzen purpurrothe Färbung annimmt.

Reactionen von Capranica. Salzsaures Guanin giebt mit kalt gesättigter Lösung von Picrinsäure erwärmt einen krystallinischen, um so langsamer entstehenden Niederschlag, je verdünnter die Lösung ist; der Niederschlag besteht aus gelben Krystallkügelchen mit Seidenglanz, er ist fast unlöslich in kaltem, wenig löslich in warmem Wasser. Diese Reaction ist ziemlich empfindlich. Ferricyankalium in concentrirter Lösung giebt mit Guaninlösung sofort prismatische Krystalle von gelbbrauner Farbe, in warmem Wasser löslich. Die Reaction ist ungefähr so empfindlich wie die gegen Picrinsäure. Eine concentrirte Lösung von chromsauren Kali giebt mit Guanin rasch orangerothe Prismen, die in Wasser sehr wenig löslich sind. Diese

Reaction ist jedoch nicht so empfindlich wie die beiden andern. Xanthin und Sarkin geben sie nicht*).

Um Guanin in Organen aufzusuchen, kann man das Verfahren von Scherer**) befolgen, welches zur Entdeckung des Guanin im Pancreas führte. Die zerkleinerten Organe wurden in kochendes Wasser eingetragen, 5 Minuten im Sieden erhalten, dann colirt, der Rückstand nochmals mit heissem Wasser extrahirt und ausgepresst. Das gewonnene klare Filtrat wurde mit Barytwasser gefällt, filtrirt und die Flüssigkeit unter Zusatz von essigsaurem Kupferoxyd im Wasserbade eingedampft. Der Kupferniederschlag wurde abfiltrirt und gut ausgewaschen, dann in viel Wasser und Salzsäure kochend gelöst, noch warm mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Nach Entfernung des gefällten Schwefelkupfers durch Filtration wurde die Flüssigkeit eingedampft, hierbei schieden sich erst stark gefärbte krystallinische Krusten und Rinden ab, denen sich später nadelförmige Krystalle, ähnlich dem salzsauren Sarkin, beimengten. Diese Krystalle wurden durch Lösen in verdünnter Salzsäure, Entfärben durch Thierkohle, Abdampfen zur Krystallisation gereinigt.

Dampft man die Lösung der Krystalle mit überschüssigem Ammoniak zur Trockne ab und zieht mit Wasser aus, so bleibt das Guanin zurück.

Da das Guanin in Wasser unlöslich ist, in verdünnter Salzsäure aber nicht schwer gelöst wird, so ist es von Sarkin und Xanthin auf diese Weise zu trennen, wenn es mit denselben zusammen auftreten sollte.

Harnsäure $C_5H_4N_4O_3$.

106. Die Harnsäure ist besonders reichlich im Harne der Vögel, beschuppten Amphibien und der Insecten enthalten, in geringer Menge im Harne des Menschen und der meisten Säugethiere. Die Blasen- und Nierensteine bestehen oft fast ganz aus Harnsäure und harnsauren Salzen. In dem normalen Blute ist Harnsäure bei Hühnern von Meissner in Spuren nachgewiesen, sie findet sich im Blute reichlich nach Unterbindung der Ureteren bei Vögeln und Schlangen, auch sind die Lymphgefässe dann damit überfüllt und sie findet sich dann in jedem Organe. Bei Arthritis und Leukämie ist sie

*) Capranica, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 233.

**) Ann. Chem. Pharm. Bd. 112. S. 276.

beim Menschen im Blute und Transsudaten nachgewiesen und bildet bei ersterer oft Ablagerungen in den Gelenken und am Periost der Knochen. Auch in Ascitesflüssigkeit bei Carcinom der Bauchhöhle wurde sie gefunden. In der Leber, Milz, den Lungen, Pancreas und Gehirn finden sich geringe Mengen davon beim Menschen und Rinde normal. Bender fand Harnsäure im Gesichte, auf dem Magen und der Leber einer längere Zeit begraben gewesenen Leiche.

Man gewinnt die Harnsäure am Reichlichsten aus Guano, am Reinsten aus Schlangenexcrementen. Die letzteren werden in verdünnter Natronlauge gelöst, filtrirt und das Filtrat mit Kohlensäure gesättigt. Das ausgeschiedene harnsaure Natron wird mit verdünnter Salzsäure gekocht, erkalten gelassen, die ausgeschiedene Harnsäure abfiltrirt und mit Wasser gut gewaschen. Rochleder empfiehlt sie zu reinigen durch Zertheilen in Wasser, Eintragen von Natriumamalgam, bis die Harnsäure gelöst ist, abzufiltriren und mit Salzsäure zu fällen.

Die Harnsäure bildet ein krystallinisches farbloses Pulver, wenn sie völlig rein ist; sie fällt jedoch aus allen durch Harnfarbstoff gefärbten Flüssigkeiten oder aus dem Extracte des Guano stets gelbroth bis braun gefärbt nieder, krystallisirt im unreinen Zustande besser als nach völliger Reinigung und wird durch Kohle etc. sehr schwer entfärbt. Die Krystalle sind fast stets mikroskopische und zwar bilden sich durch Zusatz geringer Mengen Säure zur verdünnten Lösung z. B. Harn von Menschen, ebenso häufig beim Stehen des Harns rhombische Tafeln oder Säulen, oft mehre in einander verwachsen, deren stumpfe Winkel meist stark abgerundet sind. Zuweilen zeigen sich spitzwetzsteinförmige unvollkommene Krystalle. Ist schnell durch viel starke Säure die Harnsäure abgeschieden, so stellt sie vierseitige gestreifte, oft treppenartig an einander gereihte Prismen mit ziemlich vertical zu den Prismenflächen aufgesetzter Endfläche dar*). Diese Krystalle sind wasserfrei, sie lösen sich in 14000 Thl. kaltem oder 1800 Thl. kochendem Wasser, gar nicht in Alkohol oder Aether. Die Harnsäure ist geschmack- und geruchlos, nicht flüchtig beim Erhitzen. Für sich erhitzt zersetzt sie sich unter Bildung von Harnstoff, Cyansäure, kohlensaurem Ammoniak, Blausäure, und es bleibt Kohle zurück. Mit concentrirter Schwefelsäure

---

*) Vortreffliche Abbildungen der verschiedenen Formen der Harnsäure, wie sie sich spontan oder nach Säurezusatz ausscheiden, giebt der Atlas der physiologischen und pathologischen Harnsedimente, von R. Ultzmann und K. B. Hofmann, Wien, 1872.

erhitzt liefert sie Ammoniak und Kohlensäure. Von heisser Salpetersäure wird sie unter Aufbrausen gelöst und zersetzt, mit verdünnter Salpetersäure abgedampft giebt sie beim Trocknen des Rückstandes einen rothen Körper, welcher durch eine Spur Aetzammoniak schön purpurroth, durch Kali- oder Natronlauge prächtig violettblau gefärbt wird (purpursaures Ammoniak oder Murexid und purpursaures Kali oder Natron). Kalte sehr starke Salpetersäure mit Harnsäure allmälig gesättigt stehen gelassen giebt eine Krystallisation von Alloxan, verdünnte Salpetersäure bildet Alloxantin. Harnsäure in alkalischer Lösung wird durch übermangansaures Kali unter Aufnahme von 1 Atom O und 1 Mol. H_2O in Allantoin und CO_2 umgewandelt, wenn die Temperatur niedrig bleibt. Dieselbe Zersetzung erhält man durch Einwirkung von Ferridcyankalium, Kupferoxydhydrat und anderen oxydirenden Stoffen auf alkalische Lösung von Harnsäure; auch durch Eisenchlorid in höherer Temperatur wird wahrscheinlich unter Reduction des Eisenchlorids zunächst Allantoin, dann Harnstoff und Oxalsäure gebildet. Mit kaltgesättigter Jodwasserstoffsäure oder Salzsäure auf 170^0 erhitzt zerfällt sie zu Glycocoll, Ammoniak und Kohlensäure.

Die Harnsäure löst sich sehr wenig in Aetzammoniak, aber leicht in Kali- oder Natronlauge. Sie löst sich ferner in wässerigen Lösungen neutraler borsaurer, phosphorsaurer, kohlensaurer, milchsaurer, selbst essigsaurer Alkalien (nicht in den Ammoniakverbindungen dieser Säuren), indem sie diesen Säuren einen Theil des Alkali entzieht und saures harnsaures neben saurem borsauren u. s. w. Alkali bildet. Eine Lösung von Harnsäure in Aetzalkalilauge wird durch anhaltendes Einleiten von Kohlensäure in der Kälte gefällt; der Niederschlag ist saures Alkalisalz. Beim Kochen von Harnsäure mit viel Aetzalkali bildet sich Uroxansäure.

Die Salze der Harnsäure sind unlösliche Pulver, nur die Alkalisalze sind eben so löslich oder löslicher in Wasser als die Säure selbst.

Saures harnsaures Ammoniak $C_5H_3(NH_4)N_4O_3$

ist häufig in Harnsedimenten, Blasen- und Nierensteinen enthalten, ebenso im Harne der Schlangen und Vögel. Dies Salz bildet entweder mikroskopische, an ihren Formen nicht erkennbare, jedoch eckig erscheinende Partikel oder Morgenstern-, Stechapfelformen, Kugel-, Keulen-, Rübenformen. Es löst sich in 1600 Theilen kaltem, viel leichter in warmem Wasser.

Saures harnsaures Natron $C_5H_3NaN_4O_3$.

Der Hauptbestandtheil der meisten sogenannten Ziegelmehlsedimente im Harne (sedimentum lateritium), in Harnsteinen gleichfalls häufig Hauptbestandtheil, ebenso im Schlangenharn. Die weisse Masse des Harns der Vögel besteht dagegen nach Meissner im Wesentlichen aus freier Harnsäure. Die Formen, in denen dieses Salz sich ausscheidet, stimmen mit denen des harnsauren Ammoniak völlig überein Aus eingedampften Harnrückständen scheidet sich dies Salz stets in Kugeln und Knollen aus, welche denen des Leucin sehr ähnlich sind, aber dunklere Contouren haben. Es löst sich in 1100 bis 1200 Theilen kaltem oder 125 Theilen kochendem Wasser und dieser bedeutende Unterschied in der Löslichkeit je nach der Temperatur bedingt die Ausscheidung des Salzes beim Erkalten des auch bei relativ grossem Gehalte davon klar gelassenen Harns. Es dient diese leichte Löslichkeit dieser Niederschläge beim Erwärmen des Harns zur Erkennung des harnsauren Natrons.

Das saure harnsaure Kali, in jeder Beziehung dem Natronsalz ähnlich, findet sich gleichfalls meistens in Harnsedimenten, löst sich in etwa 800 Theilen kaltem und 70 bis 80 Theilen kochendem Wasser.

In den Harnsedimenten kommen auch harnsaure Alkalisalze vor, welche etwas mehr oder weniger Alkali als die oben beschriebenen haben*); ein ähnliches Natronsalz, dem man die Formel $C_5H_4N_4O_3 + C_5H_3NaN_4O_3$ geben könnte, findet sich in den arthritischen Ablagerungen auf den Gelenkknorpeln.

So wie die Harnsäure selbst haben auch die erwähnten Salze derselben grosse Neigung, Farbstoffe aus dem menschlichen Harne bei ihrem Ausfallen mit sich niederzureissen, während die Ablagerungen in den Gelenken, ebenso die Ausscheidungen bei Vögeln im Harne sowie nach Unterbindung der Ureteren derselben in den verschiedensten Organen schneeweiss erscheinen.

Durch Essigsäure oder Salzsäure werden alle erwähnten Salze leicht unter allmäligem Absatz krystallisirter Harnsäure zerlegt. Löst man Harnsäure in Natronlauge und fügt einen Ueberschuss von Chlorammonium hinzu, so bildet sich alsbald oder nach einiger Zeit ein flockiger Niederschlag von harnsaurem Ammoniak.

---

*) Bence Jones, Chem. Centralbl. 1862. S. 872. und R. Maly ebendaselbst 1863. S. 581.

Versetzt man eine Lösung von Harnsäure in Natronlauge mit schwefelsaurem Kupferoxyd, so tritt besonders beim Erwärmen Reduction des Kupferoxyds zu Oxydul ein und es bildet sich ein weisser Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul, durch Zusatz von mehr Kupfersalz und Kochen erhält man freies Kupferoxydul. Auch Indigolösung wird durch Harnsäure in alkalischer Lösung schnell und reichlich entfärbt.

Durch basisch essigsaures Bleioxyd wird die Harnsäure aus ihren Lösungen langsam gefällt.

Die geringe Menge Harnsäure, welche in ammoniakalischer Flüssigkeit löslich ist, wird aus dieser Lösung durch ammoniakalische Silberlösung nicht gefällt, wohl aber entstehen gelatinös-flockige Ausfällungen, wenn diese Flüssigkeiten zugleich Salze der Alkalien oder alkalischer Erden enthalten, die dann entstehenden Niederschläge sind Doppelverbindungen der Harnsäure mit Silber und diesen Metallen*).

107. Zur Aufsuchung und Nachweis der Harnsäure im Harne versetzt man denselben, wenn er frei von Eiweiss und nicht sehr diluirt ist, mit Salzsäure und lässt 24 Stunden stehen; bei Gegenwart von Albumin bedient man sich besser der Essigsäure, doch ist es zweckmässiger, durch Kochen erst das Eiweiss zu coaguliren und die filtrirte, etwas eingedampfte Flüssigkeit erst mit Essigsäure zu versetzen. Verdünnte Harne werden vor dieser Behandlung zuerst auf ein kleines Volumen abgedampft und dann mit der Säure versetzt. Es ist zur Auffindung der Harnsäure wichtig, die etwa vorhandenen Sedimente zu beachten, häufig fällt im diabetischen Harne die ganze Harnsäure als sandiges, rothes Krystallpulver binnen kurzer Zeit aus und kann dann leicht übersehen werden. Wäscht man die nach 24- bis 48stündigem Stehen abgeschiedenen Harnsäurekrystalle mit Wasser, dann mit Alkohol, so wird der Farbstoff möglichst entfernt und etwa gefällte Benzoë- oder Hippursäure gelöst. Zur weiteren Reinigung kann man in wenig Natronlauge den Harnsäureniederschlag lösen, mit Chlorammonium saures harnsaures Ammoniak fällen und dies mit Salzsäure nach dem Abfiltriren zerlegen.

Um aus Blut, Lymphe, Transsudaten Harnsäure darzustellen, erhitzt man die nöthigenfalls mit Wasser verdünnte Flüssigkeit zum Sieden, filtrirt die Eiweissmassen heiss ab, dampft das Filtrat zur

*) Salkowski, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 5. S. 210. R. Maly, ebendaselbst. Bd. 6. S. 201.

Trockne ein, extrahirt den Rückstand mehrmals mit kochendem Wasser, filtrirt heiss, dampft die Filtrate auf ein kleines Volumen ein, versetzt dann mit Essigsäure und lässt 24 bis 48 Stunden zur Krystallisation stehen. Die Reinigung der ausgeschiedenen Säure geschieht so, wie es oben für die aus dem Harne dargestellte Harnsäure angegeben ist.

Aus Milz, Leber u. s. w. erhält man sie ebenso durch Auslaugen der zerkleinerten Organe mit viel schwach erwärmtem Wasser, Coliren, Erhitzen zum Kochen, Abdampfen zur Trockne, Ausziehen des Rückstandes erst mit Alkohol, dann mit heissem Wasser. Aus dem letzteren Extracte wird die Harnsäure gewonnen so wie es für das Blut u. s. w. oben angegeben ist.

Etwas umständlicher ist das Verfahren, nach dem es Meissner*) gelang, im Blute und der Leber von Hühnern Harnsäure aufzufinden. Das Blut (mindestens von 12 Hühnern) wurde aus den durchschnittenen Halsgefässen in eine grössere Menge Wasser unter Schlagen desselben hineinfliessen gelassen, die wässerige Lösung unter Zusatz von etwas verdünnter Schwefelsäure zum Sieden erhitzt und filtrirt. Nach mässiger Concentration derselben auf dem Wasserbade wurde mit Barytwasser ausgefällt und nach dem Filtriren der Baryt durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter Schwefelsäure gerade ausgefällt. Die abfiltrirte klare Flüssigkeit (wenn etwa 400 CC. Blut in Arbeit genommen war) auf ungefähr 10 bis 15 CC. eingedampft, dann mit absolutem Alkohol ausgefällt, gab einen schmierigen, braunen Niederschlag, welcher von der Lösung getrennt, in etwas Wasser unter Erwärmen gelöst wurde; gab die Lösung dann bei Neutralisation mit Salzsäure und Stehen keinen Niederschlag, so wurde weiter eingedampft und wieder stehen gelassen. Der braune amorphe Niederschlag von harnsaurem Alkali konnte endlich abfiltrirt und durch Einbringen in verdünnte Salzsäure in schöne Krystalle von Harnsäure verwandelt werden.

Nach dem gleichen Verfahren fand Meissner Harnsäure in dem wasserigen Extracte zerkleinerter Hühnerlebern, während es in Muskeln und Lunge nicht gelang sie nachzuweisen.

Hat man nach den beschriebenen Methoden eine Substanz als Niederschlag von mehr oder weniger deutlicher krystallinischer Form erhalten, so prüft man 1) zunächst die Form und Farbe der Krystalle unter dem Mikroskope. Die Färbung der Harnsäurekrystalle

---

*) Zeitschr. f. rat. Med. Bd. 31. S. 146. 1868.

ist fast immer gelb bis dunkelbraun, ihre Form dagegen sehr wechselnd, Wetzstein-, Tonnenform, rhombische Tafeln, gestreifte Prismen u. s. w.

2) Prüft man einen Theil der Masse mittelst Salpetersäure und Ammoniak.

Murexidprobe.

Man bringt ein Wenig der zu prüfenden Substanz auf einen Porzellantiegeldeckel oder eine kleine Porzellanschale, fügt ein paar Tropfen Salpetersäure hinzu, erhitzt und verdampft dann bei mässiger Wärme unter Blasen zur völligen Trockne. Besteht die Masse aus Harnsäure, so wird sie sich in der Salpetersäure lösen und beim Abdampfen eine gelbliche, beim völligen Trocknen eine rothe Masse geben, und es wird diese Masse prachtvoll purpurroth, wenn man einen Tropfen Aetzammoniak von der Seite hinzufliessen lässt, sie wird dagegen blauviolett, wenn man statt dessen oder nachher einen Tropfen Kali- oder Natronlauge' zufliessen lässt. Jeder Ueberschuss von Ammoniak oder fixer Alkalilauge ist ebenso zu vermeiden, als zu starkes Erhitzen beim Abdampfen und Trocknen der Lösung der Substanz in Salpetersäure.

3) Zur Bestätigung lässt sich noch das Verhalten der Harnsäure gegen Natronlauge und Ammoniak andererseits benutzen. Man löst eine nicht zu kleine Portion in wenig Natronlauge, filtrirt, wenn etwas ungelöst blieb, versetzt das Filtrat mit Chlorammonium im Ueberschusse und lässt, wenn nicht sofort ein Niederschlag entstand, einige Zeit stehen. Es wird sich, wenn die Flüssigkeit nicht ausserordentlich verdünnt ist, ein flockiger Niederschlag von saurem harnsauren Ammoniak gebildet haben, der in Aetzammoniak nicht löslich ist und auf Zusatz von überschüssiger Salzsäure sich allmälig wieder in Krystalle freier Harnsäure umwandelt.

4) Auch das Verhalten der Harnsäure gegen Natronlauge und etwas Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd (siehe oben) kann man zur Bestätigung benutzen.

Alloxan $C_4H_2N_2O_4$ hat Liebig*) einmal in einer schleimigen Masse, die bei einem Darmkatarrh abgegangen war, aufgefunden. Das Alloxan ist sonst nirgends im thierischen Körper aufgefunden, aber seine nahe Beziehung zur Harnsäure bekannt. Es bildet sich, wie oben bei der Harnsäure angegeben ist, durch Einwirkung starker Salpetersäure auf Harnsäure, man erhält es aber auch durch Behandlung von Harnsäure mit chlorsaurem Kali und Salzsäure. Es bildet grosse farblose Krystalle beim Erkalten der heiss gesättigten wässerigen Lösung, die

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 121. S. 80.

Krystallwasser enthalten $C_4H_2N_2O_4 + 4H_2O$; die wässerige Lösung reagirt sauer und färbt die Haut roth, verbreitet dabei einen unangenehmen Geruch Ueber 100° erhitzt färbt es sich rothbraun, an der Luft wird es bald undurchsichtig und färbt sich rosenroth, durch Zink und Salzsäure, Zinnchlorür oder Schwefelwasserstoff wird es in Alloxantin verwandelt, bei der letzteren Reduction scheidet sich Schwefel ab.

Liebig löste die eingetrocknete Masse in Wasser, brachte die Lösung in eine unten mit Pergamentpapier geschlossene Graham'sche Zelle, stellte diese in destillirtes Wasser und überliess das Ganze einer 24 stündigen Dialyse. „Das Wasser zeigte sich dann farblos, von schwach salzigem Geschmack, gab auf Platinblech eingetrocknet und erhitzt einen rothen Fleck. Eine Portion davon gab mit einem Tropfen Blausäure und dann mit Ammoniak versetzt sogleich beim Reiben an der Glaswand in der Flüssigkeit mit einem Glasstabe feine weisse Nadeln von Oxalan; mit Schwefelwasserstoffwasser vermischt trübte sich die Flüssigkeit durch Abscheidung von Schwefelmilch und gab dann mit Barytwasser einen violettblauen Niederschlag; etwas eingetrocknet und mit Ammoniak versetzt bildete sich nach einiger Zeit gallertartiges mykomelinsaures Ammoniak."

108. Oxalursaures Ammoniak $C_3H_3(NH_4)N_2O_4$ ist von Schunk*) als Bestandtheil des normalen menschlichen Harns erkannt und dies Vorkommen von Neubauer**) bestätigt. Zu seiner Gewinnung aus Harn lässt man denselben auf gekörnte Thierkohle, wie sie in den Zuckerfabriken angewendet wird, auftropfen. Diese Thierkohle befindet sich in einer pipettenartig geformten unten ausgezogenen Glasröhre und ist überdeckt mit einem Stück Leinwand, welches Epithelien, Schleim etc. zurückhält und öfter gewechselt wird. Durch einen Quetschhahn regulirt man das Auftropfen in der Weise, dass in 24 Stunden etwa 20 Liter Harn die Kohle passiren. Hört die entfärbende Kraft der Kohle auf, so füllt man die Pipette mit neuer Kohle. Die Kohle wird dann mit destillirtem Wasser gewaschen, bis das Filtrat weder Chlor noch Phosphorsäure mehr enthält, dann an der Luft getrocknet und nun mit Alkohol ausgekocht, bis dieser sich nicht mehr gelb färbt. Von diesen alkoholischen Filtraten wird der grösste Theil des Alkohol abdestillirt, der Rückstand in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade verdampft. Der zurückbleibende Syrup wird mit Wasser behandelt filtrirt, das Filtrat zum Syrup verdunstet und dieser zur Krystallisation stehen gelassen. Durch Dialyse kann das oxalursaure Ammoniak weiter gereinigt werden und endlich werden die aus dem Diffusat beim Verdampfen erhaltenen Krystalle mit etwas absolutem Alkohol abgespült und in heissem Wasser gelöst mit sehr

---

*) Proceed. of the royal soc. Vol. 16. S. 140.

**) Zeitschr. f. analyt. Chem. Jahrg. 7. S. 225.

wenig gereinigter Thierkohle behandelt; beim Verdunsten des Filtrats bleibt saures oxalursaures Ammoniak zurück. Aus 100 bis 150 Liter Urin erhielt Neubauer hinreichende Quantität, um die charakteristischen Eigenschaften des oxalursauren Ammoniak an der Substanz zu prüfen; die Ausbeute ist also sehr gering.

Aus Harnsäure stellt man oxalursaures Ammoniak durch Lösen in warmer sehr verdünnter Salpetersäure, Uebersättigen nach dem Erkalten mit Ammoniak und Eindampfen zur Krystallisation dar. Parabansäure in wässeriger Lösung mit Ammoniak gekocht liefert gleichfalls oxalursaures Ammoniak.

Oxalursaures Ammoniak ist in Wasser sehr schwer löslich, die heisse Lösung giebt mit salpetersaurem Silber einen nach dem Erkalten sich ausscheidenden Niederschlag in seideglänzenden Nadeln von oxalursaurem Silber, in heissem Wasser oder Ammoniak löslich, ferner giebt die Lösung des Ammoniaksalzes in heissem Wasser mit verdünnter Salpetersäure einen feinpulverigen krystallinischen Niederschlag von Oxalursäure. Wird die Oxalursäure mit verdünnter Säure gekocht, so spaltet sie sich in Harnstoff und Oxalsäure. Versetzt man eine concentrirte Lösung von oxalursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium oder Chlorzink, so scheiden sich beim längeren Stehen die Salze dieser Basen in charakteristischen mikroskopischen Krystallen aus. Wird eine Lösung von oxalursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium und Ammoniak erwärmt, so scheidet sich schon ehe die Siedehitze erreicht ist, oxalsaurer Kalk bei genügender Verdünnung der Lösung in schönen mikroskopischen Octaedern aus. Concentrirte Lösung von oxalursaurem Ammoniak giebt mit essigsaurem Blei versetzt nach kurzer Zeit eine Trübung und einen pulverigkrystallinischen Niederschlag von oxalursaurem Blei.

Das unreine oxalursaure Ammoniak bildet kleine Krystallbüschel oder kugelige Aggregate, an der Oberfläche mit feinen Krystallnadeln besetzt.

Die obige von Neubauer beschriebene Darstellungsmethode aus dem Harne sowie die genannten Reactionen können zum Nachweise allein dienen.

Der Ansicht von Schunk, dass die allmälig sich abscheidenden oxalsauren Kalksedimente im Harne ihre Entstehung der Zerspaltung von oxalursaurem Ammoniak verdankten, trat Neubauer entgegen, weil er fand, dass letzteres Salz im Harne lange Zeit unverändert bestehen kann, bei der alkalischen Gährung aber die Oxalursäure verschwindet, ohne dass Oxalsäure nachzuweisen ist.

Allantoïn $C_4H_6N_4O_3$.

109. Das Allantoïn wurde zuerst in der Allantoïsflüssigkeit des Kalbes, später auch im Harne des neugeborenen Kalbes, ferner im Kindswasser und im Harne neugeborener Kinder innerhalb der ersten acht Tage nach der Geburt gefunden. Nach Gusserow und Hermann ist Allantoïn im normalen menschlichen Harne in geringer Menge enthalten, reichlicher im Harne von Schwangeren. Auch soll sich reichlich Allantoïn im Harne nach Gerbsäuregebrauch finden. Im Harne von Hunden und anderen Thieren findet sich nach Meissner häufig Allantoïn in geringer Menge. Im Hundeharn ist es bei Fleischkost nicht constant, zuweilen reichlicher. Nach Einführung von Harnsäure in den Magen findet sich Allantoïn im Harne*). Auch in Pflanzen und zwar in Platanensprossen ist von Schultze und Barbieri**) Allantoïn aufgefunden.

Man stellt Allantoïn am Besten dar***) durch vorsichtigen Zusatz von übermangansaurem Kali 1 Mol. zu Harnsäure 3 Mol. in Wasser zertheilt bei gewöhnlicher Temperatur unter Vermeidung jeder Erwärmung. Man filtrirt dann schnell das Manganhyperoxyd ab, übersättigt mit Essigsäure und lässt 24 Stunden zur Krystallisation stehen. Auch durch Bleihyperoxyd, Kupferoxydhydrat, Ferridcyankalium, Ozon wird aus Harnsäure Allantoïn neben CO_2 gebildet. Synthetisch ist Allantoïn dargestellt von Grimaux†) durch längeres Erhitzen von Glyoxylsäure mit Harnstoff bei 100°.

Das Allantoïn krystallisirt in glänzenden durchsichtigen kleinen Prismen, ist geruch-, geschmacklos und ohne Reaction auf Lackmus, in 160 Theilen kaltem Wasser, viel leichter in heissem Wasser löslich, unlöslich in kaltem absoluten Alkohol oder Aether, in heissem Alkohol ziemlich löslich. In Lösungen kohlensaurer Alkalien wird es leichter gelöst. Beim Erhitzen verkohlt Allantoïn ohne zu schmelzen unter Entwickelung ammoniakalischer Dämpfe. Es verbindet sich nicht mit Säuren, wohl aber mit Metallen. Durch ammoniakalische Silberlösung wird es aus seinen concentrirten Lösungen gefällt; die niederfallenden weissen Flöcken bestehen aus Allantoïn-Silberoxyd; beim Stehen wandeln sich dieselben in Körner um, trocknet man sie

*) Salkowski, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 9. S. 719 u. Bd. 11. S. 500.
**) Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd 25. S. 145.
***) Ad. Claus, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1874. S. 227.
†) Compt. rend. T. 83. p. 62.

bei 100°, so tritt leicht Reduction von Silber ein. Auch Blei- und Kupferverbindungen des Allantoïn sind leicht zu erhalten. Durch salpetersaures Quecksilberoxyd wird Allantoïn gleichfalls gefällt, ebenso durch Quecksilberchlorid. Durch Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure wird Allantoïn in Ammoniak, Kohlensäure und Kohlenoxyd, durch concentrirte Alkalilauge in Ammoniak und Oxalsäure, durch kochende Salpetersäure in Harnstoff und Allantoïnsäure verwandelt.

Um das Allantoïn in Flüssigkeiten aufzusuchen, ist es zweckmässig, durch Kochen und Filtriren erst die Eiweissstoffe zu entfernen, dann mit salpetersaurem Quecksilberoxyd zu fällen, den ausgewaschenen Niederschlag in Wasser zertheilt mit Schwefelwasserstoff zu zerlegen, zu filtriren, nach Zusatz von etwas Ammoniak auf dem Wasserbade auf ein sehr kleines Volumen zu verdunsten und dann die klare Flüssigkeit mit ammoniakalischer Lösung von salpetersaurem Silberoxyd zu fällen. Man lässt einige Zeit stehen, sammelt das ausgeschiedene Allantoïn-Silberoxyd auf dem Filter, wäscht gut aus, trocknet mit der Luftpumpe über Schwefelsäure einen Theil und wägt, verascht und wägt das zurückbleibende Silber. Das trockene Allantoïn-Silberoxyd soll nach der Formel 40,75 pCt. Ag geben. Aus der übrigen Silberverbindung kann durch Schwefelwasserstoff das Silber abgeschieden und beim Abdampfen der filtrirten Flüssigkeit das Allantoïn krystallisirt erhalten werden.

Meissner*) giebt folgende Methode an zur Abscheidung des Allantoïn aus Harn: Der Harn wird mit Barytwasser ausgefällt, der gelöste Baryt mit Schwefelsäure unter sorgfältiger Vermeidung eines Ueberschusses gefällt, das alkalische Filtrat dann mit concentrirter Quecksilberchloridlösung versetzt, so lange Niederschlag entsteht (dabei wird die Reaction sauer), neutralisirt durch Aetzkali und nun noch Quecksilberchlorid hinzugefügt, so lange Niederschlag erfolgt. Sowohl im Niederschlage, der in saurer Lösung entstanden ist, als auch in dem nach Neutralisation erhaltenen befindet sich das Allantoïn; sie werden in Wasser zertheilt, das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff entfernt, filtrirt. Aus dem dann eingedampften Filtrate scheidet sich das Allantoïn krystallisirt aus.

Beim Fällen von eingedampftem Harn mit Alkohol geht stets ein Theil des Allantoïn in die alkoholische Lösung über, durch Aether wird es aus derselben ausgefällt.

---

*) Zeitschr. f. rat. Med. Bd. 31. S. 304. Anm.

Cholin oder Neurin $C_5H_{15}NO_2$.

110. Das Cholin wurde zuerst von Strecker*) bei der Untersuchung der Schweinegalle, später auch in der Ochsengalle gefunden, Liebreich**) erkannte es später als Zersetzungsproduct des phosphorhaltigen Körpers der Nervensubstanz, Diakonow***) wies die Entstehung des Neurin bei Zersetzung des Lecithin nach. Dybkowski erwies die Identität von Cholin und Neurin. Weder im freien Zustande noch in anderer Verbindung als im Lecithin ist Neurin bis jetzt im Thierkörper mit Sicherheit nachgewiesen. Claus und Keesé zeigten die Uebereinstimmung von Neurin und Sinkalin in ihren Platin- und Goldchloridverbindungen. Liebreich glaubt zwischen dem Zersetzungsproduct aus der Nervensubstanz und dem des Eidotters, der Galle u. s. w. unterscheiden zu müssen. Das erstere, welches er Neurin nennt, soll mit Platinchlorid ein in gelben blättrigen Krystallen sich abscheidendes Doppelsalz geben von der Zusammensetzung einer Vinylverbindung $C_2H_3, CN(CH_3)_3$, OH und dies soll durch Aufnahme von 1 Mol. Wasser leicht übergehn in das andere $C_2H_4(OH)N(CH_3)_3OH$, dem er den Namen Bilineurin giebt. Ueber eine derartige Vinylverbindung existiren keine weiteren Angaben hinsichtlich ihres Vorkommens oder ihrer Bildung aus Bestandtheilen des thierischen Organismus.

Künstlich dargestellt ist das Neurin oder Cholin von Wurtz†) zunächst durch Einwirkung von salzsaurem Glycol auf Trimethylamin und dann durch Einwirkung von Aethylenoxyd und Wasser auf Trimethylamin. Nach dieser Entstehung, ferner nach den von Baeyer angestellten Untersuchungen, endlich nach seiner Zersetzung beim Erhitzen in Trimethylamin und Glycol kann es nicht zweifelhaft sein, dass das Neurin als Trimethyloxäthyl-Ammoniumhydrat anzusehen ist.

Man erhält das Neurin am Einfachsten aus Eidotter, nach dem Verfahren von Diakonow, indem man die breiige Dottermasse mit

*) Strecker, Ann. Chem. Pharm. Band 123. S. 353. 1862. Band 148. S. 76. 1868.

**) Liebreich, ebendas. Bd. 134. S. 29.

***) Diakonow, Tübinger med. chem. Unters. Heft 2. 1867, Heft 3. 1868. Centralbl. f. d. med. Wiss. 1868. No. 1, 7 und 28.

†) Wurtz, Ann. Chem. Pharm.-Suppl.-Bd. 6. S. 116. S. 197. Baeyer, Ann. Chem. Pharm. Bd. 140. S. 306.

Aether durch Zusammenschütteln extrahirt, den Rückstand noch mit warmem Weingeist auszieht, Aether und Weingeist nach dem Abschütteln abdestillirt und den Rückstand mit Barytwasser etwa 1 Stunde lang im Sieden erhält. Man fällt dann durch Einleiten von Kohlensäure den Baryt, filtrirt, dampft auf dem Wasserbade zuletzt bei mässiger Wärme zum Syrup ein, extrahirt den Rückstand mit bestem absoluten Alkohol und fällt das Filtrat mit Platinchlorid. Das Platindoppelsalz des Neurin ist in absolutem Alkohol unlöslich und fällt als feiner hellgelber Niederschlag aus. Nach Abfiltriren löst man das Doppelsalz in Wasser, entfernt durch anhaltenden Strom von Schwefelwasserstoff das Platin, dampft das Filtrat zum Syrup ein und erhält beim Trocknen mit der Luftpumpe über Schwefelsäure salzsaures Neurin krystallisirt, ebenso durch Lösen in absolutem Alkohol und Aufgiessen einer Schicht Aether. Aus der salzsauren Verbindung erhält man das Neurin durch Behandlung mit frisch gefälltem Silberoxyd. Das Neurin ist eine farblose syrupöse Substanz, die stark alkalische Reaction besitzt, mit Säuren neutral reagirende, meist sehr zerfliessliche Salze bildet. Beim Erhitzen zersetzt sich Neurin, schon beim Erhitzen der concentrirten wässerigen Lösung, indem Glycol zurückbleibt und neben Trimethylamin auch Aethylenoxyd überdestillirt; im Destillate regenerirt sich daher etwas Neurin (Wurtz). Besonders charakteristisch sind die Platin- und Gold-Doppelsalze. Das salzsaure Neurinplatinchlorid ist leicht löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol oder Aether, aus der concentrirten wässerigen Lösung scheiden sich beim Stehen über Schwefelsäure prachtvolle grosse klinorhombische, orangerothe Prismen oder Tafeln (meist sechsseitige Tafeln) aus von der Zusammensetzung $(C_5 H_{15} NO Cl)_2$, $PtCl_4$. Das Golddoppelsalz bildet kleine gelbe, in Alkohol oder Aether unlösliche Krystalle von der Zusammensetzung $C_5 H_{15} NO Cl$, $Au Cl_3$.

Wird salzsaures Neurin mit rothem Phosphor und überschüssiger concentrirter Jodwasserstoffsäure auf 140° erhitzt, so geht es unter Austritt von Wasser und Chlorwasserstoff in Trimethyljodäthyl-Ammoniumjodid $N(CH_3)_3 C_2 H_4 J$, J über, welches aus heisser wässeriger Lösung beim Erkalten sich in schönen Krystallen abscheidet und beim Kochen mit Wasser und Silberoxyd in Trimethylvinyl-Ammoniumhydrat $N(CH_3)_3 C_2 H_3$, HO sich umwandelt.

Das Auftreten von Trimethylamin in den Destillationsproducten des Harns, Blutes, des Leberthrans, der Häringslake, besonders

nach Zusatz von Kalkmilch, welches Dessaignes*), Hofmann**), Winckler***) beobachtet haben, ist durch Zersetzung des Neurin resp. des Lecithin verursacht.

Ausser durch Platinchlorid, Goldchlorid in alkoholischer Lösung wird das Neurin noch durch Phosphormolybdänsäure sowie durch Phosphorwolframsäure in salpetersaurer Lösung gefällt.

Ein allgemein anwendbarer Gang zur Aufsuchung und zum Nachweis des Neurin würde sich noch kaum aufstellen lassen. Starkes Concentriren der die freie Base enthaltenden Lösung müsste in allen Fällen vermieden werden, Flüssigkeiten bei ihrer Untersuchung auf Neurin also bei saurer Reaction eingedampft, mit Alkohol gefällt und ausgezogen und schliesslich die Lösung in absolutem Alkohol mit Platinchlorid gefällt werden. Die Löslichkeit des Platindoppelsalzes in Wasser, Unlöslichkeit in Alkohol oder Aether lässt es dann von Kalium- und Ammoniumplatinchlorid ebenso wie von Lecithin ziemlich gut trennen. Das gereinigte aus Wasser umkrystallisirte Neurinplatinchlorid giebt beim Glühen 31,87 pCt. Platin. Die Krystallformen dieses Platin- und des Golddoppelsalzes und das Verhalten der freien Base beim Erhitzen geben weitere Anhaltspunkte zum Nachweis.

Betaïn $C_5H_{11}NO_2$.

Nach Liebreich†) findet sich Betaïn oder Oxyneurin, wie er diesen Körper nennt, in sehr geringer Menge im Urin. Künstlich wird es durch vorsichtige Oxydation des Cholin oder durch Einwirkung von Monochloressigsäure auf Trimethylamin erhalten. Es findet sich in der Rübenzuckermelasse und in Pflanzensäften (Lycium barbarum), bildet in Wasser oder Alkohol lösliche grosse glänzende Krystalle, die 1 Mol. Krystallwasser enthalten. Die Gold-, Platin- und Zinkchloridverbindungen sind gut krystallisirt erhalten.

Lecithin $C_{44}H_{90}NPO_9$.

111. Lecithin findet sich in fast allen bisher darauf untersuchten thierischen und pflanzlichen Zellenflüssigkeiten und ebenso in fast allen thierischen Flüssigkeiten, wie Blut, Transsudate, Galle, Eiflüssig-

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 100. S. 218 u. Journ. d. pharm. Ser. 3. Bd. 32. S. 43.

**) Ann. Chem. Pharm. Bd. 83. S. 116.

***) N. Repertor. d. Pharm. Bd. 1. S. 116.

†) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 2. S. 12 u. 167.

keiten, besonders reichlich ist es im Gehirn, Nerven, Eidotter, Sperma, Eiter, Blut, elektrischen Organen der Rochen gefunden.

Krystallisirt ist das Lecithin zuerst vom Verf.*) aus Eidotter und aus Caviar dargestellt und von Diakonow**) als eine Verbindung des Neurin mit Distearylglycerinphosphorsäure $C_3H_5(C_{18}H_{35}O_2)_2PO_4H, N(CH_3)_3C_2H_4(HO)$ erkannt.

Aus Eidotter erhält man Lecithin zwar mit grossem Verluste, aber ziemlich rein nach folgendem Verfahren: Die vom Eiweiss getrennten Dotter werden mit Portionen Aether geschüttelt und die Aetherlösung abgegossen, so lange der Aether noch deutlich gelbe Farbe annimmt. Der Rückstand wird mit Wasser in grossem Ueberschuss gefällt, schnell auf dem Filter gewaschen, ausgepresst und mit Alkohol bei 50—60° auf dem Wasserbade extrahirt, und so schnell als möglich bei dieser Temperatur zum zähen Syrup verdunstet. Dieser letztere wird dann in möglichst wenig absolutem Alkohol gelöst und die filtrirte Lösung einer Kälte von —5 bis —20° 12 bis 24 Stunden lang im bedeckten Glase ausgesetzt. Der Niederschlag, der sich meist in runden Körnchen, seltener in feinen Krystallblättchen ausscheidet, wird in der Kälte abfiltrirt, schnell ausgepresst und über Schwefelsäure mit der Luftpumpe getrocknet. Das so erhaltene Lecithin ist eine knetbare, aber bröckelige, farblose, nicht deutlich krystallinische Masse, die in Alkohol leicht, besonders reichlich in heissem Alkohol, weniger aber immer noch reichlich in Aether löslich ist; auch Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, fette Oele lösen es auf. In Wasser quillt Lecithin zur kleisterartigen Masse, die unter dem Mikroskope schleimig-ölige Fäden und Tropfen (Myelinformen) bildet; sowohl diese gequollene Masse als auch die alkoholische concentrirte Lösung bräunt sich beim Erwärmen über 70°. Beim Stehen der Lösung oder der gequollenen Masse tritt bald Zersetzung ein, indem sich saure Reaction einstellt. Säuren sowie Alkalien spalten das Lecithin sehr leicht, beim Kochen mit Barytwasser entstehen schnell neben einander Neurin und Glycerinphosphorsäure, welche in der wässerigen Lösung bleiben, die letztere an Baryt gebunden, und stearinsaurer Baryt, der sich ausscheidet. Schüttelt man dagegen eine ätherische Lösung von Lecithin mit verdünnter Schwefelsäure, so nimmt diese das Neurin auf, während

*) Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuchungen. Tübingen. Heft 2. 1867.
**) Vergl. die im vorigen Paragraphen citirten Arbeiten Diakonow's.

Distearylglycerinphosphorsäure im Aether gelöst bleibt. Durch Abgiessen der ätherischen Lösung, Fällung der Schwefelsäure durch Barytwasser, des Barytüberschusses durch Kohlensäure, Abdampfen des Filtrats kann das Neurin erhalten werden. Bei der Fäulniss entstehen aus dem Lecithin Neurin und Glycerinphosphorsäure und das Erstere zersetzt sich leicht weiter unter Bildung von Trimethylamin, dessen Vorkommen in sich zersetzenden thierischen Flüssigkeiten wohl stets auf die Zerlegung von Lecithin zurückzuführen ist.

Strecker*) hat salzsaures Lecithin und die Platinchloriddoppelverbindung desselben dargestellt, indem er Eidotter mit einer Mischung von Aether und Alkohol behandelte, die wenig Fett löste, einen Theil des Aethers durch Abdestilliren entfernte, dann kalt mit salzsäurehaltigem Platinchlorid fällte. Der weissliche flockige Niederschlag wurde zur Reinigung mehrmals in Aether gelöst und mit Alkohol gefällt, das Platin in der ätherischen Lösung schliesslich durch Schwefelwasserstoff abgeschieden und das Filtrat bei mässiger Wärme verdunstet. Diese Darstellung liefert keine reine Substanz, da einerseits mehre Stoffe zusammen gefällt werden und das Lecithin gegen Säuren sehr empfindlich ist.

112. Nach den Untersuchungen Diakonow's und Strecker's scheinen mehre Lecithine im Eidotter vorzukommen. Wird das nach des Verf. und Diakonow's Darstellungsmethode erhaltene Lecithin abfiltrirt, so ergiebt die Mutterlauge verseift bei entsprechendem Gehalte an Glycerinphosphorsäure einen nicht unbedeutenden Gehalt an Oelsäure. Strecker erhielt aus dem Platinchloridniederschlag neben wenig Stearinsäure viel Palmitin- und Oelsäure. Die beiden von Phosphorsäure nicht gesättigten Affinitäten des Glycerin können also im Lecithin von Stearin-, Palmitin- oder Oelsäure, vielleicht auch von einigen anderen Säuren eingenommen sein, und überhaupt zeigt das Lecithin nach der einen Seite hin die Constitution eines Fettes, nach der anderen die eines Salzes (oder nach Strecker die einer Base, vergl. a. a. O.).

Die Trennung des Lecithin von anderen Stoffen ist schwierig auszuführen, da es nicht allein leicht zerfällt, sondern auch die Lösungsverhältnisse anderer Stoffe verändert und z. B. Eiweissstoffe, Kalkverbindungen in ätherische, Inosit und andere Körper in alkoholische Lösung hinüberzieht und selbst in fast alle Niederschläge anderer

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 148. S. 77. 1868.

Stoffe mit hineingerissen wird. Es ist deshalb auch schwer zu entscheiden, in wie weit es mit anderen Körpern in Verbindung oder neben ihnen in einer Lösung oder einem Niederschlag sich befindet.

Der Nachweis und die Trennung von anderen Körpern wird wohl am besten nach folgender Methode auszuführen sein: Die Flüssigkeiten werden mit Alkohol gefällt, der Rückstand mit warmem Alkohol extrahirt, die Alkoholauszüge bei mässiger Wärme verdunstet; dabei ist auf möglichst neutrale Reaction zu achten, nöthigenfalls durch Essigsäure oder Sodalösung während des Eindampfens zu neutralisiren. Der Verdampfungsrückstand wird mit einer Mischung von absolutem Alkohol und Aether extrahirt, das Filtrat durch Abdestilliren vom Aether befreit, die alkoholische Lösung nach dem Erkalten entweder mit salzsäurehaltigem Platinchlorid gefällt oder auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand mit mehreren Portionen Aether ausgezogen. Der filtrirte Aetherauszug kann neben Spuren vieler anderer Stoffe ausser Lecithin hauptsächlich Fette und Cholesterin enthalten. Destillirt man den Aether ab und behandelt eine Probe des Rückstandes auf dem Objectträger mit etwas Wasser, so zeigen sich bei mikroskopischer Untersuchung die ölig-schleimigen Tropfen, Fäden und Figuren, wie sie vom Nervenmark bekannt sind. Zum weiteren Nachweis wird die Masse mit Barytwasser etwa eine Stunde im Sieden erhalten, dann Kohlensäure zur völligen Ausfällung des Baryt eingeleitet, filtrirt und im Filtrate nach § 110 das Neurin aufgesucht, sowie die Glycerinphosphorsäure; die Unlöslichkeit des glycerinphosphorsauren Baryt in Alkohol dient zur Trennung vom Neurin. Die abfiltrirten Barytseifen, welche fast stets mit Cholesterin gemengt sind, werden in Wasser zertheilt, mit Salzsäure aus ihnen die fetten Säuren abgeschieden und nebst Cholesterin durch Schütteln mit Aether in diesen aufgenommen. Die abgegossene ätherische Lösung wird mit sehr verdünnter Natronlauge geschüttelt und nach Abheben der ätherischen Lösung diese nochmals mit Wasser geschüttelt. Nach dieser Behandlung befindet sich das Cholesterin ganz in der ätherischen Lösung, die Natronseifen der fetten Säuren in wässeriger Lösung, aus der sie nach §§ 71, 72, 73 getrennt erhalten werden.

Der Nachweis des Lecithin fusst also, abgesehen von den Lösungsverhältnissen, im Wesentlichen auf dem Nachweise seiner Zersetzungsproducte, seine quantitative Bestimmung auf der Bestimmung des Phosphorgehaltes des Alkohol- oder Aetherauszugs, welche das Lecithin enthalten. Phosphorsaure und glycerinphosphorsaure Salze sind

in beiden unlöslich, aus der Bestimmung des Phosphorgehaltes dieser Extracte ist also ihr Lecithingehalt zu berechnen. Nach der oben gegebenen Formel enthält das Lecithin 8,798 pCt. P_2O_5 und die bei einer Phosphorbestimmung gefundene Quantität $Mg_2P_2O_7$ mit 7,2703 multiplicirt ergiebt die diesem Pyrophosphate entsprechende Quantität Lecithin.

Charcot'sche Krystalle, Schreiner'sche Base C_2H_5N. (?)

113. Aus der Milz bei Leukämie, dem Blute und Knochenmark bei derselben Krankheit, verschiedenen Sputis und menschlichem Sperma sind, zuerst in der leukämischen Milz von Charcot und Robin, mikroskopische Krystalle enthalten, die später häufig Gegenstand mikroskopischer Untersuchung gewesen, sehr verschieden gedeutet und Charcot'sche Krystalle genannt sind. Schreiner*) ist es gelungen, diese Krystalle aus Sperma, Kalbsleber, Kalbsherz, Stierhoden u. s. w. zu lösen und durch Umkrystallisiren zu reinigen. Nach seinen Untersuchungen bestehen diese entweder kurz prismatisch oder als sehr spitz prismatische und gewölbtflächige Pyramidencombinationen sich darstellenden Krystalle aus der phosphorsauren Verbindung einer organischen Base von der einfachen Zusammensetzung C_2H_5N. Dies Phosphat ist sehr schwer löslich in kaltem Wasser, unlöslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Kochsalzlösung, leicht löslich in verdünnten Säuren, in kaustischen oder kohlensauren Alkalien, auch in Ammoniak. In heissem Wasser lösen sie sich viel leichter als in kaltem. Sie wurden umkrystallisirt nach Waschen mit kaltem Wasser aus heissem, mit etwas Ammoniak versetztem Wasser nach dem Eindampfen der Lösung. Sie enthielten 21,2 pCt. Krystallwasser bei 100° entweichend und die trockne Substanz gab 35,1—35,4 pCt. P_2O_5 und 14,0 pCt. Stickstoff.

Wird das natürliche Phosphat der Base mit der berechneten Quantität Barytwasser zersetzt und das Filtrat verdunstet, so erhält man eine amorphe Masse, die sich meist bald in wawellitartige, in Alkohol oder Wasser lösliche Krystalle verwandelt. Die Lösungen der Base, die nicht flüchtig ist, reagiren alkalisch, ziehen CO_2 aus der Luft an und geben beim Erhitzen auf Platinblech schwachen Ammoniakgeruch und dicke weisse Nebel. Mit Phosphorsäure vereinigt sich die Base in Lösungen beim Zusammenbringen und liefert

*) Liebig's Ann. Bd. 194. S. 68.

sogleich wieder die Charcot'schen Krystalle. Die salzsaure Verbindung der Base bildet in Wasser leicht lösliche, in Alkohol schwer lösliche, büschelförmig vereinigte, anscheinend sechsseitige Prismen; das Platindoppelsalz ziemlich grosse Prismen, das Golddoppelsalz perlmutterglänzende goldgelbe Nadeln. Die Base wird gefällt durch Chlorzink, Gerbsäure, Silbernitrat, Sublimat, Goldchlorid, Platinchlorid langsam. Sie wird ferner durch Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure niedergeschlagen.

Protamin.

114. Das Protamin wurde von F. Miescher*) in Verbindung mit Nuclein in den Spermatozoen des Rheinlachses gefunden und zwar in den trocknen Samenfäden zu 26,8 pCt. Dasselbe tritt darin aber erst unmittelbar vor der Geschlechtsreife in der Drüse auf (mit November) und ist in dem Samen anderer Thiere noch nicht gefunden. Zur Darstellung wurden die isolirten Samenfäden oder die zerriebene Drüsensubstanz zunächst mit heissem Alkohol zur Entfernung von Fett, Lecithin u. s. w. erschöpft, der Rückstand mit sehr verdünnter Salzsäure rasch extrahirt, im Filtrate der Säureüberschuss grösstentheils abgestumpft und mit Platinchlorid gefällt. Das als Platindoppelsalz gefällte Protamin bildet zunächst einen gelben harzigen Niederschlag, der beim längeren Stehen unter der Flüssigkeit körnig krystallinisch wurde. Er löst sich in überschüssiger Salzsäure, aber weder in Wasser noch Alkohol, Aether, Benzol u. s. w. Enthält der Niederschlag etwas Phosphor von Zersetzung des Nuclein, so zersetzt man das Salz mit SH_2 und fällt zum zweiten Male mit Platinchlorid. Das Platindoppelsalz ist bei 105° leicht ohne Zersetzung zu trocknen, giebt im trocknen Luftstrome bei 100° keinen ClH ab, zersetzt sich aber unter Schmelzen bei 120°. Man kann auch nach der Behandlung des Samens mit heissem Alkohol, mit verdünnter Salpetersäure das Protamin extrahiren und nach Abstumpfung der Säure mit Quecksilbernitrat fällen, aber nach Piccard**) enthält dieser Niederschlag neben Protamin noch Guanin und Sarkin. Piccard findet die Zusammensetzung des Platindoppelsalzes vorläufig zu $PtCl_4 + 2 (HCl . C_8 H_{16} N_{4^1/_2} O_2)$. Das reine Protamin hat so wenig als seine

*) F. Miescher, Verhandl. der naturforsch. Gesellsch. in Basel. VI. 1 Heft 1874. S. 153 und Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. VII. 1874. S. 376.

**) J. Piccard, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1874. S. 1714.

Salze bis jetzt unverkennbare Krystalle gegeben. Das salpetersaure sowie das salzsaure Protamin lösen sich leicht in Wasser, schwer in Alkohol, nicht in Aether, besitzen einen eigenthümlichen adstringirenden bitter-süssen Geschmack. Durch Phosphormolybdänsäure, Jodquecksilber, Jodkalium, Platincyankalium, Ferridcyankalium entsteht weisse milchige Trübung in den Lösungen der Protaminsalze; auch $HgCl_2$ giebt milchige Trübung. Silbernitrat giebt flockigen Niederschlag, ammoniakalische Silberlösung giebt keine Fällung.

Aus dem Phosphormolybdänsäureniederschlage erhält man durch Behandlung mit Barytwasser und Entfernung des Barytüberschusses durch CO_2 die freie Base, die in Wasser mit alkalischer Reaction, in Aether oder Alkohol nicht löslich ist.

Eine Lösung von Nuclein in Ammoniak giebt mit der Lösung eines Protaminsalzes einen schweren pulverigen Niederschlag, der aus mikroskopischen Körner- und Kugelaggregaten besteht und Nuclein in Verbindung mit Protamin enthält.

Glycocoll $C_2H_5NO_2$.

115. Glycocoll, auch Leimzucker oder Glycin genannt, ist noch nicht präformirt in thierischen und menschlichen Organismen gefunden, bildet sich aber bei Zersetzung der Hippursäure, Glycocholsäure, der Harnsäure, des Leims und der Substanz des Badeschwamms mit Säuren oder Alkalien.

Man stellt Glycocoll am Zweckmässigsten aus Hippursäure durch Kochen mit Salzsäure dar (vgl. unten Darstellung der Benzoesäure). Nach Ausfällung der Benzoesäure dampft man die Flüssigkeit zur Trockne ein, löst den Rückstand in wenig Wasser, filtrirt etwa ungelöst bleibende Benzoesäure ab, kocht das Filtrat mit Bleioxydhydrat kurze Zeit, filtrirt, scheidet durch Schwefelwasserstoff das gelöste Blei ab und dampft die klare filtrirte Flüssigkeit zur Krystallisation ein.

Glycocoll kann auch künstlich durch Einwirkung von Ammoniak auf Monobromessigsäure oder durch manche andere Reaction erhalten werden, besonders durch Einwirkung von concentrirtem Jodwasserstoff auf Cyangas in der Hitze, ferner durch Einwirkung desselben auf Tricyanwasserstoff oder endlich auf Harnsäure. Es bildet farblose, oft grosse, harte Krystalle von rhomboëdrischer Form oder vierseitige Prismen, von süssem Geschmacke, bei 170° schmelzend und sich zer-

setzend. Sie lösen sich in 4,3 Theilen kaltem Wasser, schwer in heissem Weingeist, sind unlöslich in kaltem Alkohol oder Aether; die Lösungen haben saure Reaction; Glycocoll verbindet sich mit Metalloxyden und Säuren und krystallisirt aus Lösungen, die neutrale Alkalisalze enthalten, leicht mit diesen in Verbindung. Mit Eisenchlorid färbt sich seine Lösung roth. Siedende Lösung von Glycocoll löst Kupferoxydhydrat zu einer blauen Flüssigkeit auf, welche concentrirt beim Erkalten dunkelblaue Nadeln von Glycocoll-Kupferoxyd ausscheidet. Diese Kupferverbindung ist in Alkohol unlöslich. Ebenso löst Glycocoll im Sieden der Lösung Silberoxyd. Mit überschüssiger Salzsäure abgedampft giebt es in Wasser oder Alkohol sehr leicht lösliche Krystalle von der Zusammensetzung $C_2H_5NO_2, ClH$. Kupferoxydul wird von Glycocolllösung gelöst. Es wird durch salpetersaures Quecksilberoxyd oder Quecksilberchlorid nicht gefällt. Durch salpetrige Säure wird es in Glycolsäure, Stickstoff und Wasser zerlegt. Fermente scheinen eben so wenig, als Kochen mit verdünnter Alkalilauge oder Säuren auf das Glycocoll einzuwirken. In der Hitze zersetzt sich Glycocoll zu Methylamin und Kohlensäure, besonders beim Erhitzen mit Aetzbaryt.

Die Leichtlöslichkeit des Glycocoll in Wasser, Unlöslichkeit in Alkohol und Aether, sowie die grosse Löslichkeit der salzsauren Verbindung in Alkohol machen es bei nicht zu geringer Menge des Untersuchungsmaterials ziemlich leicht, das Glycocoll von den anderen Stoffen zu trennen, mit denen es in gemeinschaftlichen Lösungen gefunden wird. Die Krystallisation, der süsse Geschmack, das Verhalten der Lösung gegen Kupferoxydhydrat sind die hauptsächlichsten Anhaltspunkte zur Erkennung.

Sarkosin oder Methylglycocoll $C_3H_7NO_2$.

Sarkosin ist noch nicht im thierischen Körper aufgefunden, es bildet sich aber leicht durch Kochen von Kreatin mit Barytwasser, künstlich wird es erhalten durch Einwirkung von Methylamin auf Monochloressigsäure. Es bildet farblose rhombische Säulen, ist in Wasser leicht löslich, weniger in Alkohol, unlöslich in Aether. Beim Erhitzen schmilzt es und sublimirt unzersetzt. Mit Säuren verbindet es sich ebenso wie Glycocoll, mit alkoholischer Lösung von Chlorzink giebt es in alkoholischer Lösung einen Niederschlag $(C_3H_7NO_2)_2 ZnCl_2$, welcher in Wasser leicht, in Alkohol dagegen schwer löslich ist.

Mit Goldchlorid giebt Sarkosin ein in Alkohol oder heissem Wasser leicht, in kaltem Wasser sehr schwer lösliches Doppelsalz $C_3H_7NO_2, HCl, AuCl_3$, welches aus der heissen wässerigen Lösung beim Erkalten sich in rhombischen Blättchen ausscheidet.

Leucin $C_6H_{13}NO_2$.

116. Das Leucin ist ein constantes Fäulnissproduct der Albumin- und Leimstoffe; es bildet sich aus diesen Körpern, sowie aus Horn auch durch Behandlung mit Aetzalkalien oder Kochen mit Schwefelsäure oder besser Salzsäure. Im Schmutze auf der Haut (gefaulter Epidermis), verdickten Nägeln an den Zehen, in der Schafwolle, Ichthyosisschuppen, Atherombälgen findet es sich neben Tyrosin und trägt durch seine fortdauernde Zersetzung wesentlich zum üblen Geruch unrein gehaltener Hautflächen bei. Im Harne findet es sich nur in bestimmten Fällen von Lebererweichung, in diesen aber sehr reichlich. Im ganz frischen Eiter ist es oft gefunden. Bei Insecten, Spinnen und Krebsen ist sein Vorkommen constatirt, auch in Pflanzen ist Leucin gefunden, z. B. in frisch gekeimten Wicken. Es findet sich fast stets in Gesellschaft von Tyrosin.

Um das Leucin rein zu gewinnen, ist nur die synthetische Darstellung zu empfehlen. Man kocht dazu eine Mischung von Valeraldehyd, Blausäure und Salzsäure in einer Retorte, bis das ölig geschmolzene Valeraldehydammoniak verschwunden ist, dampft zur Trockne ab, kocht den Rückstand mit Wasser und Bleioxydhydrat, filtrirt, entfernt das Blei durch Schwefelwasserstoff, verdunstet das Filtrat im Wasserbade, löst den Rückstand in heissem schwachen Weingeist und lässt zur Krystallisation erkalten und verdunsten. Einfacher und schneller erhält man reines Leucin durch Einwirkung von Ammoniak auf Monobromcapronsäure.

Aus Hornspänen stellt man das Leucin durch 24stündiges Kochen von 2 Theilen Hornspänen mit 5 Theilen Schwefelsäure, die mit 13 Theilen Wasser verdünnt ist, unter häufigem Ersatze des verdampfenden Wassers dar. Man filtrirt, nachdem man die noch heisse Flüssigkeit mit Kreide übersättigt hat, und dampft das Filtrat auf die Hälfte ein, fällt den gelösten Kalk mit Oxalsäure aus, filtrirt und dampft nun zur Krystallisation ab. Man reinigt es noch durch Kochen mit Bleioxydhydrat u. s. w., wie es in der ersten Darstellungsweise beschrieben ist.

Hlasiwetz und Habermann*) wandten mit Vortheil folgendes Verfahren zur Trennung von Leucin und Tyrosin und zur Reinigung des Leucin an. Das Gemenge wird in kochendem Wasser unter Zu-

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 169. S. 160.

satz von ein Wenig Ammoniak gelöst, die heisse Lösung so lange mit Bleiessig unter Umrühren versetzt, bis der nun entstehende Niederschlag nicht mehr bräunlich, sondern weiss ausfällt, nach dem Filtriren wird nahe zum Sieden erhitzt, mit verdünnter Schwefelsäure das Ammoniak gesättigt und Blei ausgefällt, schnell filtrirt. Beim Erkalten fällt das Tyrosin fast quantitativ aus. Die Lösung wird nun durch Schwefelwasserstoff von Blei befreit und eingeengt, dann in die siedende Lösung frisch gefälltes Kupferoxydhydrat im Ueberschuss eingetragen und damit kurze Zeit kochen gelassen. Der Niederschlag enthält einen Theil des Leucin, der durch Zersetzung des in kochendem Wasser zertheilten Niederschlags mit SH_2, Zusatz von ein Wenig Essigsäure, Abfiltriren des Schwefelkupfers, Entfärben mit Thierkohle, Abdampfen auf kleines Volumen und Erkaltenlassen sehr rein gewonnen wird. Der andere Theil des Leucin ist in der lasurblauen Lösung, die beim Kochen mit Kupferoxydhydrat gewonnen war, enthalten. Diese Lösung giebt beim Abdampfen und Stehenlassen bald himmelblaue Warzen der Kupferoxydverbindung des Leucin. Aus dieser Lösung wird durch die obige Behandlung mit SH_2 u. s. w. das Leucin in büschelförmig gruppirten Nadeln also nicht so rein erhalten als aus dem Kupferoxydniederschlag. Auch durch Umkrystallisiren aus ammoniakhaltigem Alkohol kann Leucin gereinigt werden.

Das Leucin bildet glänzende, weisse, ausserordentlich dünne und leichte Krystallblättchen, die sich mit Wasser nur sehr langsam benetzen. Es löst sich in etwa 27 Theilen kaltem, leichter in heissem Wasser, in 1040 Theilen kaltem und 800 Theilen siedendem Alkohol. Wenn das Leucin unrein ist, so wie man es aus thierischen Flüssigkeiten fast allein gewinnt, ist es viel leichter löslich in Wasser und insbesondere auch löslicher in Weingeist. Es krystallisirt aus diesen Lösungen in runden Kugeln und Knollen, die ziemlich schwach lichtbrechend sind und sich hierin von den sonst ähnlichen Abscheidungen harnsaurer Salze unterscheiden, da deren Contouren sehr dunkel und scharf erscheinen. Die Kugeln und Knollen des Leucin zeigen sich entweder ganz hyalin oder sie zeigen radiale Streifung oder bestehen deutlich aus radial gruppirten sehr dünnen Blättchen.

In Alkalien, auch Ammoniak, ebenso in verdünnten Säuren löst sich Leucin leicht auf. In concentrirter Schwefelsäure oder Salzsäure wird es auch ohne Zersetzung gelöst. Vorsichtig auf 170° erhitzt schmilzt es und sublimirt grösstentheils unzersetzt, beim schnellen

Erhitzen über 170° zersetzt es sich unter Entwickelung von Kohlensäure, Ammoniak und Amylamin. Das Leucin verhält sich gegen Säuren, Basen und Salze dem Glycocoll völlig analog, löst Kupferoxydhydrat, ohne es beim Kochen zu reduciren, und verbindet sich mit Säuren zu krystallisirbaren Verbindungen, durch salpetrige Säure wird es in Leucinsäure, Wasser und Stickstoff zerlegt, durch faulende Stoffe wird es in wässeriger Lösung in Baldriansäure und Ammoniak unter Wasseraufnahme umgewandelt; dieselbe Verwandlung erleidet es, wenn man es in alkalischer Lösung stehen lässt oder mit Aetzkali zum Schmelzen erhitzt. Beim Kochen mit Kupferoxydhydrat oder mit essigsaurem Kupferoxyd bilden sich Kupferverbindungen des Leucin mit variablem Kupfergehalte.

Um in Gewebsflüssigkeiten Leucin nachzuweisen, zerkleinert man die Organe am Besten mit der Fleischschneidemaschine, extrahirt sofort mit kaltem Wasser, colirt, presst den Rückstand in einer starken Presse aus, extrahirt nochmals mit Wasser, colirt und presst aus. Die colirten Flüssigkeiten werden durch Kochen, schwaches Ansäuern mit Essigsäure und Filtriren von Albuminstoffen befreit, dann nach der oben beschriebenen, von Hlasiwetz und Habermann empfohlenen Methode behandelt.

Um sich zu vergewissern, dass die erhaltenen Kugeln, Knollen oder Blättchen aus Leucin bestehen (diese Formen haben so wenig Charakteristisches, dass sie durchaus nicht als hinreichendes Kennzeichen des Leucin gelten können), ist es zweckmässig, dieselben durch Auspressen zwischen Papier möglichst zu reinigen, aus kochendem Alkohol umzukrystallisiren und folgende Proben mit den wieder erhaltenen Körnern oder Blättchen vorzunehmen.

1) Scherer's Probe: Man verdampft eine kleine Portion derselben mit Salpetersäure vorsichtig auf Platinblech. Bestand die Probe aus Leucin, so bleibt ein ungefärbter, fast unsichtbarer Rückstand, der mit einigen Tropfen Natronlauge erwärmt, je nach der Reinheit des Leucin sich weniger oder mehr gelb bis braun färbt und beim weiteren Concentriren durch Erhitzen über der Flamme sich bald zu einem ölartigen, auf dem Platinbleche ohne Adhäsion herumrollenden Tropfen zusammenzieht.

2) Eine Probe wird im trockenen Probirglase über der Flamme erhitzt. Besteht dieselbe aus Leucin, so schmilzt sie unter Entwickelung eines in öligen Tropfen sich abscheidenden Körpers und Geruch nach Amylamin, zugleich sublimirt ein Theil des Leucin in weissen

wolligen Flocken, die sich an der Glaswandung niederschlagen. Diese Probe gelingt noch mit sehr kleinen Quantitäten, wenn das Leucin nicht sehr unrein ist.

Isoleucin.

Durch 48stündige Digestion von Pankreas in Wasser bei 40° erhielt Nencki*) ein Leucin von etwas anderem Verhalten als das gewöhnliche. Die gefaulte Masse wurde mit Aetzbaryt versetzt destillirt, darauf der Baryt mit Schwefelsäure gefällt, entfernt und die fetten Säuren abdestillirt, dann bis zur schwach sauren Reaction mit Bariumcarbonat behandelt, filtrirt, eingedampft zur Krystallisation stehen gelassen, endlich aus heissem Wasser umkrystallisirt und mit Alkohol gefällt. 1 Theil Isoleucin löst sich in 43,6 Thl. Wasser bei 14,5°, schmeckt süss und sublimirt bei 210° mit Geruch nach Amylamin. Bei länger dauernder Fäulniss des Pankreas wird nur gewöhnliches Leucin erhalten.

Leucinsäurenitril $C_6H_{11}NO$.

Das Leucinsäurenitril, oder Leucinimid genannt, wurde bei der Darstellung von Leucin aus faulenden Albuminstoffen von Bopp**) zuerst erhalten und durch Alkohol aus dem hauptsächlich aus Tyrosin bestehenden Rückstande ausgezogen. Später wurde es in reinem Zustande dargestellt von Ritthausen und Kreusler durch Einwirkung von Schwefelsäure auf Pflanzenproteïnstoffe in geringer Menge erhalten. Es ist ein in voluminösen, farblosen, in Alkohol leicht löslichen, beim Erhitzen unzersetzt sublimirenden Nadeln krystallisirender Körper, der auch künstlich durch Einwirkung von wasserfreier Salzsäure auf Leucin erhalten ist. Bei der Darstellung aus Horn oder Albuminstoffen soll es erst beim häufigen Abdampfen der Lösungen des Leucin aus diesen gebildet werden.

Einen Körper von der Zusammensetzung $C_4H_9NO_2$ hat Theile bei Zersetzung von Vitellin mit Kalilauge erhalten; derselbe ist in Alkohol unlöslich und schwierig krystallisirbar.

Butalanin $C_5H_{11}NO_2$.

Dieser dem Glycocoll und Leucin homologe Körper ist von Gorup-Besanez***) in der Milz und Pankreas des Rindes neben Leucin gefunden. Er ist wenig löslich in Wasser oder Alkohol, zum Theil unzersetzt sublimirbar, krystallisirt in glänzenden farblosen Prismen und ist noch wenig untersucht.

Tyroleucin $C_7H_{11}NO_2$

ist von Schützenberger†) ein Körper genannt, den er gemengt mit Butalanin durch Erhitzen von Albumin mit gesättigter Barytlösung auf 130° erhalten hat.

*) Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 15. S. 390.
**) Ann. Chem. Pharm. Bd. 49. S. 16.
***) Ann. Chem. Pharm. Bd. 98. S. 15.
†) Compt. rend. T. 84 p. 124.

Das Tyroleucin bildet weisse Kugeln, löst sich bei 16° 5,3 Theile in 100 Thl. Wasser, in heissem Wasser leichter, auch in heissem Alkohol ist es löslicher als in kaltem.

Taurin $C_2H_7NSO_3$.

117. Das Taurin, früher nur als Zersetzungsproduct der Taurocholsäure in der Galle bekannt, ist dann bei verschiedenen, besonders kaltblütigen Thieren in der Muskelflüssigkeit und in dem Safte der Lunge gefunden.

Aus der Rindsgalle erhält man es am Reichlichsten durch Kochen der Galle mit verdünnter Salzsäure mehrere Stunden lang, Abfiltriren der wässerigen Flüssigkeit von den harzartig ausgeschiedenen Gallensäuren, Eindampfen zur Trockne, Ausziehen des Rückstandes mit absolutem Alkohol zur Entfernung des salzsauren Glycocoll, Auflösen des Rückstandes in Wasser und Krystallisirenlassen. Man reinigt es durch Auflösen in Weingeist, Fällen mit essigsaurem Bleioxyd, Einleiten von Schwefelwasserstoff in die filtrirte Flüssigkeit, Abdampfen derselben nach Entfernung des Schwefelbleis, Extraction des Rückstandes mit absolutem Alkohol und Umkrystallisiren des ungelöst bleibenden Taurin aus wenig Wasser.

Künstlich erhält man das Taurin durch Einwirkung von Ammoniak auf chloräthylschweflige Säure; es ist hiernach Amidoisäthionsäure. Es krystallisirt in farblosen, oft sehr grossen, lebhaft glänzenden vier- oder meist sechsseitigen Prismen und vierseitigen Pyramiden an beiden Enden der Prismen, löst sich in 15 bis 16 Theilen kaltem, viel leichter in heissem Wasser, ist unlöslich in absolutem Alkohol oder Aether, wenig löslich in kaltem, leichter in heissem Weingeist. Seine Lösungen reagiren neutral. In Alkalilauge ist es löslicher als in reinem Wasser. Beim Erhitzen zersetzt es sich nicht unter 240°, kann mit schwacher Alkalilauge oder Säure, selbst concentrirter Salzsäure, ohne Zersetzung gekocht werden. Durch Einwirkung von Untersalpetersäure wird es zu Isäthionsäure, Stickstoff und Wasser oxydirt, beim Kochen mit starker Kalilauge liefert es Essigsäure und schweflige Säure, keinen Schwefelwasserstoff. Durch Metallsalze wird es aus seinen Lösungen nicht gefällt, ebensowenig durch Molybdänphosphorsäure.

Eine Trennung des Taurin von anderen Körpern, sowie sein Nachweis sind trotz des Mangels eigentlicher charakteristischer Reactionen wegen der Nichtfällbarkeit dieses Stoffes durch Metallsalze, wegen seiner Schwerzersetzlichkeit und wegen des reichen Gehaltes an

Schwefel meist nicht schwierig. Feuchtes Quecksilberoxyd in siedende Lösung von Taurin portionsweise eingetragen, fällt dasselbe als Taurinquecksilberoxyd, wenig löslich in kaltem und heissem Wasser, unlöslich in Alkohol*). Durch SH_2 wird Taurin vom Quecksilber getrennt. Den Schwefelgehalt weist man durch Schmelzen mit Soda und salpetersaurem Natron u. s. w. (vergl. § 60) nach.

Das Nähere über Trennung und Nachweis des Taurin in Gewebsflüssigkeiten wird unten bei Abhandlung der Untersuchung letzterer erörtert werden.

Serin $C_3H_7NO_3$

wurde von Cramer**) neben Leucin und Tyrosin durch 24stündiges Kochen von Seidenleim mit verdünnter Schwefelsäure erhalten. Es bildet farblose monoklinoedrische Krystalle, die bei 10° in 32 Thln. Wasser, leichter in heissem Wasser löslich, in Alkohol oder Aether unlöslich sind. Wie Glycocoll verbindet sich auch Serin leicht mit Kupferoxyd oder Silberoxyd, giebt mit Säure schwierig krystallisirende, in ihren Lösungen sauer reagirende Salze und wird durch salpetrige Säure in Glycerinsäure $C_3H_6O_4$ verwandelt. Das Serin steht nach dieser letzten Umwandlung zur Glycerinsäure in demselben Verhältnisse, als Glycocoll zur Glycolsäure***). Der Seidenleim lieferte neben etwa 5 pCt. Tyrosin 10 pCt. Serin.

Asparaginsäure $C_4H_7NO_4$.

118. Unter den Producten der Zersetzung von Eiweissstoffen (Casein, Eiereiweiss, Vitellin) und von Horn oder Leim durch Kochen mit mässig verdünnter Schwefelsäure oder mit starker Salzsäure und Zinn ist Asparaginsäure und meist daneben die ihr homologe Glutaminsäure gefunden; die Asparaginsäure wird durch Einwirkung von Pancreassecret auf Blutfibrin auch im Thierkörper gebildet. Künstlich ist die Asparaginsäure leicht zu erhalten durch Kochen von Asparagin mit Alkalilauge.

Aus Eiweissstoffen erhielten Ritthausen und Kreusler†) die Asparaginsäure nach Abscheidung des Leucin durch Sättigung der Lösung im Sieden mit kohlensaurem Baryt oder Bleicarbonat und Fällen mit Weingeist, Wiederauflösen des Niederschlages in Wasser,

---

*) Lang, Maly, Jahresbericht 1876. S. 74.

**) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 96. S. 76.

***) Vergl. Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 15. S. 1735.

†) Bezüglich der Literatur vergl. Glutaminsäure im folgenden Paragraphen.

wiederholte Fällung mit Weingeist. Der jetzt erhaltene Niederschlag wird in Wasser gelöst, Barium oder Blei durch Schwefelsäure oder SH_2 entfernt, abgedampft, der Rückstand zur Krystallisation erkalten und stehen gelassen, mit Weingeist von 60 pCt. gewaschen; der weisse schwer lösliche Rückstand in heissem Wasser gelöst scheidet bei geeigneter Concentration beim langsamen Erkalten allmälig in rhombischen Prismen krystallisirende Asparaginsäure ab. Aus den weingeistigen Mutterlaugen ist auf ähnliche Weise eine weitere Portion von Asparaginsäure zu gewinnen.

Die Asparaginsäure zeigt in Salpetersäure gelöst eine spec. Rotation von $+25,16^0 = (\alpha)_D$ *). Durch Einwirkung von salpetriger Säure auf die in Salpetersäure gelöste Asparaginsäure erhält man Aepfelsäure. Asparaginsaures Kupferoxyd krystallisirt mit $4^1/_2$ Mol. H_2O in blauen glänzenden Nadeln, löslich in kochendem, fast unlöslich in kaltem Wasser.

Glutaminsäure $C_5H_9NO_4$.

119. Die der Asparaginsäure homologe Glutaminsäure**) wurde von Ritthausen und Kreusler neben jener Säure beim Kochen von verschiedenen Eiweissstoffen mit verdünnter Schwefelsäure erhalten. Aus Kleberproteinstoffen, Maisfibrin oder Conglutin gewannen sie die Säure durch einfaches Auskrystallisiren nach Abscheidung von Tyrosin und Leucin aus der mit Kalk gesättigten und eingedampften Flüssigkeit, sie schied sich bei mehrtägigem Stehen in festsitzenden Krusten oder als feines Krystallmehl ab. Von Tyrosin reinigt man sie durch Kochen mit kohlensaurem Baryt, Abfiltriren, Eindampfen und Auskrystallisiren des Tyrosin, das Barium trennt man durch vorsichtigen Zusatz verdünnter Schwefelsäure ab und lässt dann bei genügender Concentration krystallisiren. Bei der Behandlung anderer pflanzlicher Eiweissstoffe im Sieden mit verdünnter Schwefelsäure wurde nur sehr wenig Glutaminsäure erhalten, sie krystallisirte nicht aus, sondern musste mit der Asparaginsäure zusammen als Barium- oder

*) Vergl. Landolt, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 13. S. 2333.

**) Ritthausen und Kreusler, Journ. f. prakt. Chem. Bd. 107. S. 240. Hlasiwetz und Habermann, Ann. Chem. Pharm. Bd. 159. S. 304 und Bd. 169. S. 240.

H. Ritthausen, Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsamen u. s. w. Bonn 1872. S. 215—222.

L. Radziejewski und E. Salkowski, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1874. VII. S. 1050.

Bleisalz gewonnen, mit Alkohol gefällt und nach Abscheidung des Metalls (vergl. Asparaginsäure) durch fractionirte Krystallisation getrennt werden.

Hlasiwetz und Habermann erhielten bei dem Sieden von Casein, Albumin und anderen Eiweissstoffen mit starker Salzsäure und Zinnchlorür die Glutaminsäure nach Entfernung des Zinns durch SH_2 beim Abdampfen der sauren Flüssigkeit in der Verbindung $C_5H_9NO_4$, ClH, die sich aus der hinreichend concentrirten Lösung nach dem Erkalten krystallisirt abscheidet. Diese Verbindung ausgepresst und mit rauchender Salzsäure gewaschen, dann auf Thonplatten getrocknet und aus Wasser umkrystallisirt erscheint in schön weissen tafelförmigen, meist zu Drusen vereinigten triclinischen Krystallen. Aus ihr erhält man die Glutaminsäure rein durch Eintragen von feuchtem Silberoxyd in die siedende Lösung bis zum Aufhören der Chlorsilberbildung, Abfiltriren und Entfernung des gelösten Silbers durch SH_2, Eindunsten des Filtrats und Stehenlassen zur Krystallisation. Noch schöner und leichter als die salzsaure krystallisirt die Bromwasserstoffverbindung der Glutaminsäure.

Die Säure selbst krystallisirt in rhombischen Octaedern oder Tetraedern, klar, farblos, diamantglänzend; sie löst sich in 100 Thl. Wasser von 16° C., in 302 Thl. Weingeist von 32 pCt. und in 1500 Thl. Weingeist von 80 pCt. In Alkohol oder Aether ist sie nicht löslich. Die wässerige Lösung schmeckt und reagirt stark sauer. Die Säure schmilzt bei 135—140° nicht ganz ohne Zersetzung, bei stärkerem Erhitzen zersetzt sie sich. In verdünnter Salpetersäure gelöst, giebt sie beim Einleiten von salpetriger Säure die der Apfelsäure homologe Glutansäure $C_5H_8O_5$. In salpetersaurer Lösung zeigt die Glutaminsäure eine spec. Drehung $+ 34{,}7^0 = (\alpha)_D$.

Beim Kochen der wässerigen Lösung der Säure mit überschüssigem Kupferoxydhydrat oder kohlensaurem Kupfer erhält man ein Kupfersalz der Glutaminsäure, welches aus der tiefblauen Lösung sehr langsam in schönen lasurblauen Prismen mit pyramidalen Endflächen auskrystallisirt ($C_5H_7Cu_4NO + 2^1/_2 OH_2$). Aus sehr concentrirter Lösung sowie bei der Fällung mit Alkohol wird das Kupfersalz mit anderem Krystallwassergehalt erhalten.

Zum Nachweis dieser Säure kann neben der Rechtsdrehung nur die Darstellung der salzsauren und bromwasserstoffsauren Verbindung, des Kupfersalzes und die Elementaranalyse dienen.

Kreatin $C_4H_9N_3O_2$.

120. Das Kreatin findet sich besonders in dem Safte der willkürlichen und glatten Muskeln der Wirbelthiere und vieler Avertebraten, ist aber in geringerer oder grösserer Menge in den verschiedenen Transsudaten, der Amniosflüssigkeit, dem Blute, auch im Gehirne nachgewiesen. Im normalen Harne findet sich wenig oder kein Kreatin. Bezüglich der Darstellung siehe unten die Aufsuchungsmethode von Neubauer. Synthetisch wird Kreatin nach Volhard*) erhalten durch Einwirkung von Sarkosin auf Cyanamid und einfache Addition beider.

Das Kreatin stellt beim Auskrystallisiren aus seinen Lösungen durchsichtige farblose, harte, rhombische Prismen dar von der Formel $C_4H_9N_3O_2 + H_2O$; bei 100° getrocknet (selbst auf dem Wasserbade) werden die Krystalle weiss unter Verlust des Krystallwassers. Es besitzt einen bitteren kratzenden Geschmack, löst sich in 74 Theilen kalten Wasser, viel leichter in heissem Wasser, fast gar nicht in Alkohol, ist unlöslich in Aether. Die Lösungen reagiren neutral. Beim Erhitzen über 100° wird es leicht zersetzt, mit Säure erhitzt oder nur längere Zeit mit Wasser gekocht verliert es Wasser und geht dabei in Kreatinin über. Mit Barytwasser gekocht liefert es Methylhydantoin, Sarkosin, Harnstoff, Ammoniak und Kohlensäure. Mit Quecksilberoxyd gekocht in wässeriger Lösung giebt es unter Abscheidung von metallischem Quecksilber oxalsaures Methyluramin. Mit seinem Aequivalente einer Säure in wässeriger Lösung versetzt und im Vacuum über Schwefelsäure verdunstet liefert es Salzverbindungen, die sehr unbeständig sind und sauer reagiren. Durch salpetersaures Quecksilberoxyd wird es in Flocken gefällt, ebenso durch Chlorzink aus concentrirter Lösung allmälig in harten warzigen Krystallen, besonders nach Zusatz von Alkohol. Auch mit Chlorcadmium giebt es eine entsprechende aber sehr lösliche Verbindung. Beim Erhitzen von Kreatin mit Natronkalk erhält man Methylamin.

Zur Auffindung des Kreatin in der Muskelflüssigkeit ist besonders die Methode von Neubauer (siehe unten Untersuchung der Muskeln) zu empfehlen. Um es aus Flüssigkeiten zu erhalten, entfernt man durch Kochen die Eiweissstoffe, fällt das Filtrat mit Bleiessig (wobei grosser Ueberschuss des Fällungsmittels zu vermeiden ist), filtrirt,

*) Sitzungsber. d. bayersch. Akad. 1868. Heft 3. S. 472.

fällt aus dem Filtrate durch Schwefelwasserstoff das überschüssige Blei und dampft bei mässiger Temperatur die Lösung auf ein kleines Volumen ein. Man lässt dann die Lösung eine Woche an einem kühlen Orte stehen, filtrirt die ausgeschiedenen Krystalle ab, wäscht sie mit etwas Weingeist und prüft dann, ob sie beim Trocknen auf dem Wasserbade weiss undurchsichtig werden. Die Fällbarkeit durch salpetersaures Quecksilberoxyd, Reduction von Quecksilberoxyd beim Kochen mit ihrer Lösung giebt dann den weiteren allerdings mangelhaften Nachweis. Am Besten ist noch, es durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure in Kreatinin umzuwandeln und dies nachzuweisen.

Kreatinin $C_4H_7N_3O$.

121. Das Kreatinin ist mit Sicherheit bis jetzt nur als constanter Bestandtheil des Harns von Menschen und einiger Säugethiere nachgewiesen. Man stellt es aus Kreatin dar, indem man letzteres mit sehr verdünnter Schwefelsäure $^1/_4$ Stunde lang kocht, dann durch Bariumcarbonat neutralisirt, filtrirt, die Flüssigkeit zur Trockne auf dem Wasserbade verdunstet, mit Alkohol den Rückstand extrahirt. Der Alkoholauszug liefert beim Verdunsten Kreatinin krystallisirt.

Aus Menschenharn erhält man salzsaures Kreatinin nach Maly*) reichlich durch folgendes Verfahren. Mehrere Liter Harn werden auf $^1/_3$ oder $^1/_4$ Vol. abgedampft, von den ausgeschiedenen Salzen abgegossen mit Bleizucker gefällt, das Blei aus der abfiltrirten Lösung mit Sodalösung oder SH_2 entfernt, nach der Filtration und Neutralisation durch Essigsäure oder Soda mit concentrirter Quecksilberchloridlösung gefällt. Der Niederschlag in Wasser zertheilt wird mit SH_2 zerlegt, die abfiltrirte Flüssigkeit mit Thierkohle entfärbt und die beim Abdampfen erhaltene Salzmasse aus starkem Alkohol ein oder zwei mal umkrystallisirt. Aus der salzsauren Verbindung kann man dann durch Bleioxydhydrat leicht das Kreatinin abspalten und rein gewinnen. Auch durch Fällung des Harns mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure, Zerlegung des Niederschlags mit Aetzbaryt, Entfernung des überschüssigen Baryt durch CO_2, Abdampfen des Filtrats, Extraction des Rückstandes mit Alkohol und Verdunsten des Filtrats lässt es sich gut erhalten**).

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 159. S. 279.

**) Vergl. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 68.

Das Kreatinin bildet farblose glänzende Prismen (monoklinoedrisch) von starkätzend alkalischem Geschmacke, rothes Lackmus bläuend, nicht flüchtig. Es löst sich in 11,5 Theilen kalten, sehr leicht in heissem Wasser, in 100 Theilen kalten, noch leichter in heissem Alkohol, sehr wenig in Aether. Es verhält sich wie ein kräftiges Alkali, treibt Ammoniak aus seinen Verbindungen aus, bildet mit Säuren neutral reagirende, gut krystallisirende Salze, unter denen besonders folgende von Wichtigkeit sind:

Salzsaures Kreatinin $C_4H_7N_3O$, HCl durch Abdampfen von Kreatinin mit Salzsäure auf dem Wasserbade erhalten bildet in Wasser leicht lösliche durchsichtige Prismen oder rhombische Tafeln. Die Lösung dieses Salzes wird durch Chlorzink nicht gefällt, wohl aber geschieht die Fällung, wenn dann ausserdem essigsaures Natron im Ueberschusse zugesetzt wird.

Das salzsaure Kreatinin-Platinchlorid $(C_4H_7N_3O, HCl)_2 PtCl_4$ bildet in Wasser leicht, in Alkohol schwerer lösliche orangerothe Prismen und Nadeln.

Salzsaures Kreatinin-Goldchlorid $C_4H_7N_3O$, HCl, $AuCl_3$, in kaltem Wasser schwer, in heissem Wasser oder Alkohol leicht löslich, wird durch Fällung einer Kreatininlösung mit Salzsäure und Goldchlorid erhalten. Der gelbliche krystallinische Niederschlag bildet sich allmälig.

Das Kreatinin-Chlorzink $(C_4H_7N_3O)_2ZnCl_2$, die wichtigste Verbindung des Kreatinin, wird erhalten, wenn man zu einer alkoholischen oder nicht allzu verdünnten wässerigen Lösung von Kreatinin säurefreie concentrirte Chlorzinklösung hinzutropft. Es entsteht entweder sofort ein sehr feinkörniger Niederschlag oder bei grösserer Verdünnung bilden sich allmälig schöne Gruppen feiner Nadeln oder Prismen. Aus dem Harnextracte erhält man diese Verbindung nach Zusatz von Chlorzink meist in warzigen Krusten an den Wandungen des Gefässes, dem zahlreiche Büschel und Sterne von Nadeln beigemengt sind. In kaltem Wasser ist die Verbindung sehr wenig, in heissem Wasser leichter löslich, in Alkohol unlöslich, in Mineralsäuren leicht löslich, durch Kochen mit Bleioxydhydrat wird Zinkoxyd, Chlorblei und freies Kreatinin erhalten.

Das Kreatinin wird aus nicht zu verdünnter wässeriger Lösung gefällt 1) durch salpetersaures Silberoxyd; der aus feinen Krystallnadeln bestehende Niederschlag löst sich in heissem Wasser und scheidet sich beim Erkalten wieder aus; 2) durch Quecksilberchlorid

in ähnlicher Weise; 3) durch salpetersaures Quecksilberoxyd und allmäligen Zusatz von kohlensaurem Natron. Durch Kochen mit Quecksilberoxyd oder mit Bleihyperoxyd und Schwefelsäure oder durch übermangansaures Kali wird es ebenso wie Kreatin unter Bildung von Methyluramin zerlegt.

Zersetzt man Kreatininchlorzink mit Schwefelammonium oder lässt man Kreatinin in unreiner alkalischer Lösung einige Zeit stehen, so geht ein Theil des Kreatinin oder das Ganze unter Wasseraufnahme in Kreatin über.

Sehr geringe Quantitäten von Kreatinin werden durch eine von Weyl*) angegebene Reaction erkannt. Man versetzt die zu prüfende Lösung, z. B. normalen Menschenharn, mit wenigen Tropfen einer sehr verdünnten wässerigen Lösung von Nitroprussidnatrium und fügt dann tropfenweise verdünnte Natronlauge hinzu. Ist Kreatinin vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit schön rubinroth, aber nur kurze Zeit, die Farbe geht dann in Gelb über. Weder Kreatin noch andere ähnliche Körper geben diese Reaction. In einer wässerigen Lösung giebt 0,287 p. Mille Kreatinin noch diese charakteristische Färbung, im Menschenharne geben sie noch 0,66 p. Mille Kreatinin. Salkowski**) fand, dass die bei der Weyl'schen Reaction gelb gewordene Flüssigkeit nach Ansäuern mit Essigsäure und Erhitzen sich erst grünlich, dann blau färbt.

Wenn man nach Maschke***) wässerige Lösung von Kreatinin mit Natriumcarbonat sättigt, dann mit Fehling'scher Kupferlösung versetzt, so entsteht bei gewöhnlicher Temperatur allmälig, schneller beim Erhitzen, weissliche Trübung, dann flockiger Niederschlag, während die blaue Färbung der Lösung abnimmt. Der weisse Niederschlag besteht aus Kreatininkupferoxydul, ist leicht löslich in Wasser, verdünnter Salzsäure, auch in Ammoniak, schwer löslich in gesättigter Natriumcarbonatlösung. Eine Lösung, welche 0,01 Grmm. Kreatinin in 100 CC. enthält, giebt noch weisse Trübung. Kreatin giebt diese Reaction nicht.

Durch die angegebenen Darstellungsweisen und Reactionen ist es leicht, Kreatinin in den verschiedenen Flüssigkeiten, besonders im Harne nachzuweisen und es zu gewinnen.

---

*) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 11. S. 2175.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 133.

***) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 17. S. 134.

Taurocarbaminsäure*) $C_3H_8N_2SO_4$

findet sich im menschlichen Harne nach Einnahme von Taurin, wahrscheinlich in geringer Menge auch im normalen Harne ohne Taurineinnahme, und ihr Kalisalz wird künstlich einfach erhalten durch Erwärmen von Taurin in concentrirter wässeriger Lösung mit der hinreichenden Menge cyansaurem Kali und Fällung durch Alkohol. Aus dem Harne wird sie dargestellt durch Ausfällen des Harns mit Bleiessig, Abfiltriren nach 24stündigem Stehen, Entfernung des Bleis durch SH_2 aus der Lösung und starkes Eindampfen (mehrmalige Wiederholung dieser Reinigung wenn nöthig), Ausfällung mit absolutem Alkohol, Lösen in Wasser, Entfärbung durch Thierkohle, Wiederabdampfen und Ausfällung mit absolutem Alkohol. Aus dem hierbei resultirenden rohen Alkali- oder Kalksalz wird die Säure durch Behandlung mit Alkohol und Schwefelsäure frei gemacht und durch Abdampfen bei niederer Temperatur als Syrup erhalten, aus dem sich die Säure in krümlicher Masse abscheidet (hinsichtlich der Reinigung der Säure vergl. die Arbeiten von Salkowski).

Die reine Säure krystallisirt wasserfrei in glänzenden, quadratischen Blättchen, sie ist leicht löslich in Wasser, schwer in Alkohol, unlöslich in Aether. Das Barytsalz krystallisirt aus heissem Alkohol in kleinen stark glänzenden, zu Drusen vereinigten rhombischen Tafeln. Mit Barytwasser auf 140° erhitzt zersetzt sich die Säure in Taurin, CO_2 und NH_3.

Cystin $C_3H_7NSO_2$.

122. Das Cystin, auch Cysticoxyd oder Blasenoxyd genannt, findet sich in seltenen Fällen als einziger oder hauptsächlicher Bestandtheil von Blasen- oder Nierensteinen bei Menschen und Hunden und tritt in einzelnen Fällen als Harnbestandtheil meist als krystallinischer Niederschlag von grauweisser Farbe beim Stehen des Harns zunächst an Menge zunehmend auf. In geringer Menge ist Cystin in der Rindsniere und in der Leber von einem Säufer gefunden.

Aus Cystinsteinen oder Sedimenten stellt man das Cystin durch Lösung in Ammoniak und Verdunstenlassen des Ammoniak bei gewöhnlicher Temperatur in schönen Krystallen, sechsseitigen Tafeln oder Rhomboëdern dar, die stets farblos sind und sich hierdurch, sowie durch ihre Leichtlöslichkeit in Aetzammoniak von der Harnsäure, die zuweilen ähnlich krystallisirt, unterscheiden. In Wasser ist das Cystin eben so unlöslich als in Alkohol oder Aether; in Aetzalkalilaugen löst es sich leicht auf und wird beim Kochen mit Kalilauge oder Aetzbaryt (nicht mit Ammoniak) unter Bildung von Ammoniak, Schwefelmetall und noch

*) E. Salkowski, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. VI. S. 744 u. S. 1191.

nicht genügend bekannter Säuren zerlegt; es bilden sich Uvitinsäure, Oxalsäure, CO_2*). In Lösungen von kohlensaurem Natron oder kohlensaurem Kali löst es sich leicht, aber nicht in kohlensaurem Ammoniak. In Mineralsäuren ist es löslich, auch in Oxalsäurelösung, durch Weinsäure oder Essigsäure wird es nicht gelöst. Mit den Mineralsäuren bildet es krystallisirbare, aber leichtzersetzliche Salze. Beim Erhitzen zerlegt es sich unter Entwickelung eines übelriechenden Oels. Cystin zeigt starke linksseitige Circumpolarisation**). Külz fand $(\alpha)_D = -142^0$, Mauthner in salzsaurer Lösung (0,8 bis 2 Grm. in 100 CC) $(\alpha)_D = -205{,}86^0$.

Zum Nachweise des Cystin in Steinen und Sedimenten löst man in Aetzammoniak und lässt verdunsten. Man benutzt dann die Krystallformen, die Löslichkeit in Salzsäure, Fällbarkeit durch kohlensaures Ammoniak, ganz besonders aber eine der folgenden beiden Proben zur Erkennung dieses Körpers.

1) Eine Probe Cystin mit ein paar Tropfen Natronlauge auf Silberblech zum Kochen erhitzt giebt einen nicht wegzuwaschenden braunen oder schwarzen Fleck von Schwefelsilber.

2) Eine andere Probe im Probirglase mit einer Lösung von Bleioxyd in Kalilauge gekocht giebt Schwärzung durch gebildetes Schwefelblei.

Da diese Bildung von Schwefelmetall auch beim Kochen von Albumin-, Schleim- und Leimstoffen eintritt, so ist darauf zu sehen, dass diese Stoffe nicht in den Proben zugegen sind, die man auf die beschriebene Weise auf Cystin untersuchen will.

Melolonthin $C_5H_{12}N_2SO_3$ ist von Schreiner***) ein Körper genannt, der durch Extraction von Maikäfern mit Wasser, Abscheidung der Eiweissstoffe durch Kochen, Eindampfen, Fällen mit Bleiessig, Entfernung des Bleis aus dem Filtrate durch SH_2, weiteres Eindampfen, Abscheidung der Harnsäure und nachheriges Einengen zum Syrup neben viel Leucin erhalten wurde. Aus Wasser unter Zusatz einiger Tropfen Ammoniak umkrystallisirt, bildet das Melolonthin farblose, seideglänzende, harte, zwischen den Zähnen knirschende Krystalle, die sich schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser, wenig in Weingeist, gar nicht in Alkohol, leicht in Aetzalkalien und kohlensauren Alkalilösungen, ebenso in Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Weinsäure, weniger in Essigsäure lösen. Seine wässrigen

*) E. Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 15. S. 1731.

**) Mauthner, Sitzungsber. d. Wien. Acad. d. Wiss. Bd. 85. II. 20. April 1882. u briefliche Mittheilung.

Külz, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 15. S. 1401.

***) Ann. Chem. Pharm. Bd. 161. S. 252.

Lösungen reagiren neutral. Beim Kochen der Lösung des Melolonthin in Aetzalkalilauge mit Bleioxyd scheidet sich Schwefelblei aus. Der aus Hornspänen beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure entstehende schwefelhaltige Körper scheint mit dem Melolonthin nicht identisch zu sein.

Glycosamin $C_6H_{13}NO_5$.

123. Das salzsaure Glycosamin wurde von Ledderhose*) aus Chitin durch Einwirkung rauchender Salzsäure in der Wärme erhalten. Hummerschalen werden mit verdünnter Salzsäure und gutem Auswaschen mit Wasser von Calciumcarbonat u. s. w. befreit, in kleine Stücke zerschnitten und auf siedendem Wasserbade mit concentrirter Salzsäure bis zum Absatz krystallinischer Krusten an der Oberfläche abgedampft. Man lässt unter gutem Umrühren erkalten, filtrirt durch Leinwand, saugt mit der Wasserpumpe ab, wäscht mit wenig Wasser und Alkohol, löst in Wasser, dampft ein, filtrirt die concentrirte Lösung und lässt zur Krystallisation erkalten.

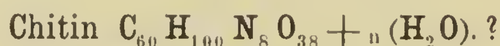
Das salzsaure Glycosamin bildet farblose, harte, luftbeständige, wasserfreie Krystalle, auch beim Erhitzen unveränderlich, monosymmetrisch hemimorph, sehr leicht in Wasser, sehr schwer in Alkohol, nicht in Aether löslich. Mit Alkali versetzt färbt sich die Lösung grün, dann braunroth, endlich braun bis schwarz, beim Kochen entweicht Ammoniak, es bildet sich hierbei Milchsäure und ein Wenig Brenzcatechin wie aus Trauben- oder Milchzucker. Mit alkoholischer Kalilauge erhält man eine in Alkohol unlösliche Kaliverbindung. Mit salpetersaurem oder schwefelsaurem Silber erhält man aus dem salzsauren das salpetersaure oder schwefelsaure Glycosamin in guten Krystallen. Schwefelsaures Glycosamin mit Aetzbaryt zerlegt giebt aus der alkoholischen Lösung die freie Base in grossen Nadeln krystallisirend.

Die alkalische Lösung des Glycosamin reducirt von Kupferoxyd ungefähr ebenso viel wie Traubenzucker von gleicher Moleculzahl. Die Drehung der Polarisationsebene durch wässerige Lösung von salzsaurem Glycosamin ist rechtsseitig und ungefähr $(\alpha)_D = + 69{,}54^0$ (16,5 Grm. in 100 CC.) unabhängig von der Temperatur. Der Austausch der NH_2-Gruppe im Glycosamin mit der Hydroxylgruppe wurde durch salpetrige Säure ausgeführt, aber der erhaltene Zucker erwies sich mit Hefe nicht gährungsfähig.

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2. S. 213 u. Bd. 4. S. 139.

Wismuthoxyd, Indigolösung, Silberoxyd werden in alkalischer Lösung der Glycosaminsalze ebenso reducirt wie durch Traubenzucker.



Chitin $C_{60}H_{100}N_8O_{38} + {}_n(H_2O)$. ?

124. Chitin ist ein, wie es scheint, sämmtlichen Gliederthieren eigener Gewebsbestandtheil von grosser Resistenz und deshalb ziemlich leicht von anderen Stoffen trennbar. Man stellt es am zweckmässigsten aus den Panzern von grossen Krebsen oder Käfern (Maikäfern) dar, indem man zunächst bei Krebsen durch Salzsäure und Waschen mit Wasser die anorganischen Salze entfernt, dann mit verdünnter Kalilauge kocht, dann mit Wasser, Alkohol, Aether auskocht und wäscht. Um die letzten Spuren von Farbstoffen aus dem zurückbleibenden Chitin zu entfernen dient am Besten Behandeln mit einer Lösung von übermangansaurem Kali; man erhält hierdurch das Chitin vollkommen weiss. Es behält bei dieser Behandlung die Form, welche ihm in den Thieren eigen war, unverändert und kann ohne Zersetzung lange Zeit bei 132—135^0 getrocknet werden, doch geht zwischen 100 und 130^0 allmälig Wasser fort, so dass sich nicht genau entscheiden lässt, ob und in wie weit dasselbe zur Constitution des Chitin selbst gehört. Bei 110^0 getrocknet kommt ihm die Zusammensetzung $C_{15}H_{26}N_2O_{10}$ zu*), während bei 135^0 noch fast ein Molecul Wasser für diese Formel entweicht**). Hoch erhitzt schmilzt das Chitin nicht, sondern verkohlt. Es ist kein Lösungsmittel bekannt, durch welches Chitin unverändert gelöst würde. Der Behandlung mit starken Alkalilaugen wiedersteht es lange, in concentrirter Schwefelsäure, sowie in heisser starker Salzsäure wird es zunächst unter Bildung von Stoffen gelöst, die bei Neutralisation gefällt werden, bei länger dauernder Behandlung zu Glycosamin umgewandelt. Daneben bilden sich fette flüchtige Säuren: Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, die wahrscheinlich Zersetzungsproducte von abgespaltenem Kohlehydrat oder von Glycosamin selbst sind und durch Einwirkung der starken Säure gebildet werden. Nach dieser von Sundvik aufgestellten Ansicht verhält sich das Chitin zum Glycosamin ähnlich der Cellulose oder dem Glycogen zum Traubenzucker, während man früher das Chitin für ein Glucosid hielt. Da man nach Sundvik aus dem

---

*) Ledderhose, a. a. O.

**) Sundvik, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 384.

Chitin unter günstigen Verhältnissen 92 pCt. Glycosamin erhält, ist an der Richtigkeit seiner Ansicht kaum zu zweifeln.

Hyalin.

125. Von den Mutterblasen der Echinococcen sind die jüngeren trübe durchscheinenden Blasen mit etwa 16 pCt. schwefelsauren, phosphorsauren und kohlensauren Salzen imprägnirt, die älteren durchsichtigeren ziemlich aschefrei; die ersteren enthalten auch etwas Eiweissstoff. Von den jüngeren Blasen ist von Lücke*) die Zusammensetzung C 44,1, H 6.7, N 4.5, O 44,7 pCt. und in den älteren C 45.3, H 6,5, N 5.2, O 43,0 im Mittel gefunden. Obwohl die jüngeren Blasen wahrscheinlich wegen ihres Eiweissgehaltes etwas andere Reactionen geben als die älteren, ist doch der Hauptbestandtheil derselben, den ich als Hyalin bezeichnet habe, identisch. Es ist dies eine opalisirend durchsichtige Substanz, welche in Wasser, Alkohol, Aether unlöslich ist, elastische leicht zerreissende Häute bildet, die sich im zugeschmolzenen Glasrohr in Wasser bei 150⁰ lösen, wenn sie von den älteren Blasen herstammen. Diese Lösung wird durch Alkohol, neutrales oder basisches Bleiacetat und durch salpetersaures Quecksilberoxyd gefällt, während Chlorwasser, Gerbsäure, Ferrocyankalium und Essigsäure, Silbernitrat, Quecksilberchlorid keinen Niederschlag geben. In Kali- oder Natronlauge lösen sich die Häute nur ganz allmälig und unvollständig, in Essigsäure gar nicht, in verdünnten Mineralsäuren unvollständig, in concentrirter Salzsäure oder Salpetersäure beim Kochen. Sowohl beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure als auch beim Stehen in concentrirter Schwefelsäure und nachherigen Eintragen in kochendes Wasser geben die Häute Traubenzucker neben nicht weiter untersuchten stickstoffhaltigen Körpern. Man erhält aus den trockenen Häuten bis 50 pCt. rechtsdrehenden, mit Hefe gährenden Traubenzucker.

Onuphin $C_{21}H_{43}NO_{10}$.

126. In den Wohnröhren von Onuphis tubicola hat Schmiedeberg**) 38,5 pCt. einer Substanz gefunden, welche neben $CaHPO_4$ und $MgHPO_4$ und nur 3,8 pCt. eines albuminartigen Stoffes diese

*) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 19. S. 189.

**) Mittheilungen a. d. zool. Station zu Neapel. 1882. Heft 3. S. 373.

Röhren bildet, die obige Zusammensetzung besitzt und als eine Verbindung eines Kohlehydrats mit einer stickstoffhaltigen Säure, wahrscheinlich einer Amidosäure angesehen werden kann. Werden diese Röhren mit verdünnter Salzsäure behandelt, so geht der grösste Theil der Phosphate in Lösung, wäscht man dann mit verdünnter Salzsäure aus (beim Waschen mit Wasser quillt die Substanz hoch auf), löst den Rückstand in verdünnter Kalilauge, filtrirt und fällt mit 2—3 Vol. Alkohol, so scheidet sich das Onuphin als weisse, flockige Masse ab, die nach Auswaschen mit Alkohol alsbald mit Wasser behandelt eine völlig klare, fadenziehende, bei grösserer Concentration fast gallertartige Flüssigkeit liefert. Das trockene Onuphin bildet eine trockene an Thonerde erinnernde Masse. Es liefert keine Albuminreactionen, löst sich in concentrirter Schwefelsäure oder Salzsäure und giebt nach Zusatz von Wasser und längerem Kochen in alkalischer Lösung Reduction von Kupferoxyd wie Zucker. Blosses Kochen mit verdünnter Säure liefert keine reducirende Flüssigkeit. Die Substanz enthält 10 bis 15 pCt. Asche und zwar saures Kaliumphosphat. Durch Gerbsäure oder Quecksilberchlorid wird Onuphin nicht gefällt, dagegen geben mehrere Metalloxyde und die Salze der alkalischen Erden in neutraler oder essigsaurer Lösung Niederschläge. Wenn die mit Salzsäure behandelten und gut ausgewaschenen Röhren im zugeschmolzenen Glasrohr mit Wasser 24 Stunden bei 120—130° erhitzt werden, bildet sich ein stickstofffreier, dextrinartiger Körper, der durch Alkohol fällbar ist und durch Kochen mit verdünnter Säure in Zucker übergeht, nämlich Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirt; neben dem dextrinartigen Körper scheint auch etwas Traubenzucker zu entstehen und ein Körper, der nach den Reactionen vielleicht Amidosäure ist.

Cerebrin.

127. Das Cerebrin ist ein charakteristischer Bestandtheil des Nervenmarkes. Ob ähnliche Körper, welche in den Eiterzellen und der Milz gefunden sind, mit ihm identisch sind, ist noch festzustellen.

Zu seiner Darstellung wird die von Häuten und Gefässen möglichst befreite Masse des Gehirns oberflächlich mit Wasser abgewaschen, zum Brei zerrieben, mit Weingeist im grossen Ueberschuss gemengt und einige Tage stehen gelassen. Die dann kalt abgegossene spirituöse Lösung enthält fast kein Cerebrin, kann aber zur Darstellung von Lecithin oder Neurin verwendet werden. Der Hirnrückstand wird

dann abermals möglichst zerrieben und so oft mit grösseren Portionen Aether extrahirt, als dieser noch wesentliche Quantitäten von Cholesterin und Lecithin aufnimmt. Der nun bleibende Rückstand wird mehrmals mit heissem Alkohol digerirt und heiss filtrirt. Beim Erkalten scheidet sich lecithinhaltiges Cerebrin aus; dasselbe wird abfiltrirt, mit kaltem Aether gewaschen, dann eine Stunde lang mit gesättigtem Barytwasser gekocht, durch Kohlensäure der Barytüberschuss ausgefällt, filtrirt, mit Wasser, zuletzt mit Spiritus kalt gewaschen. Das so gewonnene Cerebrin ist dann mit heissem Alkohol so lange umzukrystallisiren, bis es frei von Barytseife ist.

Das Cerebrin, gut gereinigt und langsam auskrystallisirt, nach Geoghegan*) C 68,74, H 10,91, N 1,44, O 18,91 pCt., bildet ein zartes, leichtes, weisses Pulver mikroskopischer, krystallinischer Körnchen und Kügelchen, schmilzt beim Erhitzen, zersetzt sich dann unter Aufschäumen und brennt mit stark leuchtender Flamme. In kaltem Wasser quillt es langsam, schneller beim Erwärmen zur kleisterartigen Masse. In kaltem Alkohol ist es unlöslich, in heissem Alkohol ziemlich löslich, in kaltem Aether schwer löslich. Durch Kochen mit Barytwasser oder mit alkoholischer Kalilauge wird es schwer angegriffen, dagegen beim Kochen mit verdünnten Mineralsäuren oder Lösen in concentrirter Schwefelsäure und Eintragen der Lösung in kochendes Wasser zersetzt in Ammoniak, einen linksdrehenden, Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirenden, nicht mit Hefe gährenden, in Wasser leicht löslichen, sehr zersetzlichen Körper und eine mit Wasser kleisterartig quellende, stickstofffreie, in Aether leicht lösliche, bei 62 bis 65° schmelzende Substanz, von Geoghegan Cetylid genannt. Dies Cetylid $C_{22}H_{42}O_5$ liefert beim Schmelzen mit Aetzkali Palmitinsäure unter Wasserstoffentwickelung und kann als eine Cetylverbindung eines Kohlehydrats angesehen werden. Es sind gegen 85 pCt. Cetylid aus dem Cerebrin erhalten.

In neuerer Zeit ist das Cerebrin einer eingehenden Untersuchung von Parcus**) unterworfen. Derselbe unterscheidet 3 neben einander auftretende Körper, von ihm Cerebrin, Homocerebrin und Encephalin genannt, für welche er folgende Zusammensetzung nach seinen Analysen berechnet in Procenten:

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3 S. 332.

**) Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 24. S. 310.

	Cerebrin:	Homocerebrin:	Encephalin:
C	69,08	70,06	68,40
H	11,47	11,595	11,60
N	2,13	2,23	3,09
O	17,32	16,115	16,91

Die von Parcus befolgte Darstellung lässt die Vermuthung zu, dass eine Verunreinigung des Cerebrin mit den aus der Zersetzung des ganzen Lecithins im Gehirn resultirenden Barytverbindungen von Stearin-, Palmitin- und Oelsäure, vielleicht auch von etwas Eiweissstoff geschehen sei. Es wird in diesen Verunreinigungen, welche in heissem Alkohol sich mehr als in kaltem lösen, vielleicht die Differenz in seinen Resultaten gegen die von Geoghegan erhaltenen zu suchen sein.

Protagon ist von Liebreich*) ein aus Gehirn mit warmem Alkohol extrahirter Körper genannt, der eine constante Zusammensetzung noch nicht hat finden lassen und entweder eine sehr leicht zersetzliche Verbindung oder ein Gemenge von Lecithin, Cerebrin und andern noch nicht untersuchten Stoffen darstellt**). Liebreich berechnet für sein Protagon die Zusammensetzung C 66,74; H 11,74; N 2,80; O 17,40; P 1,23 pCt und Gamgee und Blankenhorn C 66,39; H 10,69; N 2,39; P 1,068 pCt. Kurzes Kochen mit Barytwasser reicht hin, um aus dem Protagon Cerebrin und die Zersetzungsproducte des Lecithin Glycerinphosphorsäure, Stearin-, Palmitin-, Oelsäure und Cholin zu bilden

Collagen und Glutin.

128. Das Collagen bildet bei allen Wirbelthieren die intercellulare leimgebende Substanz des eigentlichen Bindegewebes, der Sehnen, Bänder, Fascien, Knochen und der Elfenbeinsubstanz der Zähne und hat sich bei wirbellosen Thieren nur bei den Cephalopoden gefunden. Sie ist stets mit wässriger Flüssigkeit imbibirt und verdankt dieser Imbibition ihre Beweglichkeit. Beim anhaltenden Kochen mit Wasser wird sie in Glutin, Leim, verwandelt und zwar viel schneller bei Fischen als bei andern, besonders warmblütigen Wirbelthieren. Durch verdünnte Säuren, auch durch Essigsäure, wird das leimgebende Gewebe in der Kälte schon aufgequellt, in der Wärme leichter gelöst als durch Kochen mit Wasser. Ebenso löst sich Collagen ziemlich leicht in erwärmter Alkalilauge. In Alkohol schrumpft es zusammen.

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 134. S. 29.

**) Vergl. Hoppe-Seyler, Physiol. Chemie. S. 677. u. 680.

***) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S 260.

Das Glutin oder der Leim durch Kochen von Bindegewebe mit Wasser erhalten, quillt in kaltem Wasser hoch auf, ohne sich zu lösen, löst sich dann sehr leicht beim Erwärmen der Masse mit Wasser und bildet beim Erkalten der Lösung die bekannte Leimgallert, deren Consistenz von der Reinheit des Glutins, dem Concentrationsgrade, der Abwesenheit von Säuren und Alkalien abhängt. Säuren, auch Essigsäure, ebenso Alkalien lösen Glutin schon in der Kälte auf.

Glutin wird weder durch Essigsäure und Ferrocyankalium noch durch neutrales oder basisches Bleiacetat, auch nicht durch Salpetersäure gefällt, es giebt dagegen Niederschläge mit Gerbsäure, Jodquecksilberjodkalium oder Phosphorwolframsäure in essigsaurer oder salzsaurer Lösung.

Beim Trocknen des Leims bei 130° erhielt Hofmeister*) unter Verlust von im Mittel 0,74 pCt. an Gewicht einen Körper, der in seinen Eigenschaften mit dem Collagen übereinstimmte, er hält deshalb das Collagen für ein Anhydrid des Glutin $C_{102}H_{151}N_{31}O_{39} - H_2O = C_{102}H_{149}N_{31}O_{38}$. Die Formel von Hofmeister für das Glutin stimmt ziemlich gut mit der alten Mulder'schen Formel $C_{13}H_{20}N_4O_5$. Durch vielstündiges Kochen von Leim mit Wasser verliert der Leim die Fähigkeit, beim Erkalten der Lösung Gallert zu geben und geht hierbei in einen peptonartigen Körper unter Aufnahme von Wasser (nach Hofmeister 2 bis 2.3 pCt.) über. Wird die Lösung des peptonisirten Glutin mit Bleizuckerlösung und Bleioxyd gekocht, filtrirt, dann mit SH_2 von Blei befreit, mit Bariumcarbonat gekocht, das Filtrat eingeengt und mit Platinchlorid gefällt, so geht in den Niederschlag nach Hofmeister ein Körper, Semiglutin, $C_{55}H_{85}N_{17}O_{22}$ über, während in der Lösung durch Alkohol schwierig, dagegen durch basisches Bleiacetat etc. fällbar, das Hemicollin $C_{47}H_{70}N_{17}O_{19}$ bleibt. Auch diese Zersetzungsproducte des Glutin sind in saurer Lösung durch Phosphorwolframsäure, Jodquecksilberjodkalium und durch Gerbsäure fällbar.

Durch Kochen von Leim nach dem Verfahren von Hlasiwetz und Habermann mit starker Salzsäure erhält man**) SH_2, Glutaminsäure, Leucin, Glycocoll und NH_3. Ebenso erhält man Glycocoll und Leucin beim Kochen von Glutin mit verdünnter Schwefelsäure oder mit Alkalilauge. Weder Tyrosin, noch Indol, noch Phenol, Kresol, noch Hydroparacumarsäure, überhaupt keins der aromatischen Zer-

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2. S. 299.

**) Horbaczewski, Sitzungsber. d. Wien. Acad. d. Wiss. Bd. 80. II. Juni 1879.

setzungsproducte der Eiweissstoffe ist jemals durch Einwirkung von Fäulniss oder Säure oder Alkali aus Glutin erhalten*). Nencki**) erhielt bei der Fäulniss von Glutin Leimpepton, Leucin, Glycocoll, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Trimethylamin und eine mit dem Collidin isomere Base $C_8H_{11}N$.

Leimlösungen zeigen starke linksseitige Circumpolarisation (α)j ungefähr = —112—114°. Ammoniak hat auf diese Drehung keinen Einfluss erkennen lassen.

Aromatische Körper***).

Phenol C_6H_6O und Kresole C_7H_8O.

129. Im freien Zustande finden sich die genannten Hydroxylderivate des Benzol in geringen Mengen in faulenden Lösungen von Eiweissstoffen, wie Brandjauche, Inhalt des untern Theils vom Dünndarm oder des Dickdarms, bilden sich zum Theil bei der Behandlung von Eiweissstoffen oder Tyrosin mit schmelzendem Aetzkali, kommen in Spuren frei im Pferdeharn vor, werden aber ziemlich allgemein in grösserer oder geringerer Menge beim Erhitzen von Harn mit Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure gebildet, indem bei dieser Behandlung ihre im Harn besonders der Pflanzenfresser ziemlich reichlich enthaltenen Aetherschwefelsäuren unter Wasseraufnahme gespalten werden. Beim Sieden der sauren Lösungen gehen Phenol und Kresole mit den Wasserdämpfen über. Man destillirt mit Liebig'schem Kühler über freiem Feuer bis eine Probe der übergehenden Flüssigkeit mit einigen Tropfen von Millons Reagens nicht mehr roth gefärbt wird. Enthält das Destillat nicht blos ganz geringe Spuren von Phenol oder Kresolen, so giebt es nicht allein diese Reaction gegen Millons Reagens, sondern wird bei Zusatz von Bromwasser milchig getrübt oder es erscheint sogar ein flockiger Niederschlag; auch eine starke Trübung giebt nach einiger Zeit oft, aber nicht immer, seideglänzende Nadeln, zuweilen bleibt der Niederschlag käsig amorph. Bei dieser Behandlung mit Bromwasser giebt Phenol nur Tribromphenol $C_6H_3Br_3$, OH, Parakresol dagegen eine Verbindung $C_7H_4Br_4O$, welche sich in Krystallblättchen abscheidet, die sich beim Stehen in der Lösung

*) Vergl. Nasse, Sitzungsber. d. naturforsch. Gesellsch. zu Halle 8. März 1879.

**) Nencki, Ueber d. Zersetzung d. Gelatine und des Eiweiss bei d. Fäulniss mit Pankreas. Bern. 1876.

***) Vergl. E Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 183. Brieger, Ebendas. Bd. 4. S. 204.

unter Entwickelung von CO_2 und Umwandlung in Tribromphenol zersetzen. Tribromphenol ist in Bromwasserstoff oder überschüssigem Bromwasser löslicher als in Wasser.

In den auf oben bezeichnete Weise erhaltenen Destillaten finden sich je nach Ursprung und Verfahren meist noch andere Stoffe, flüchtige Säuren, Indol u. s. w. Man reinigt die Phenole durch Zusatz von überschüssigem Aetzkali und abermaliger Destillation, wobei Indol und Ammoniak entfernt werden, Phenol und Kresole an Kalium gebunden zurückbleiben, leitet nach dem Erkalten einen Kohlensäurestrom durch die Flüssigkeit in der Retorte zur vollständigen Zerlegung dieser Kaliumverbindungen, destillirt die freigewordenen Phenole und Kresole ab.

Zur quantitativen Bestimmung eignet sich der durch überschüssiges Bromwasser im Destillate erzeugte, nach einigen Stunden Stehen in der Lösung auf gewogenem Filter gesammelte, mit Wasser gewaschene und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknete Niederschlag von Tribromphenol gut, wenn es sich um Phenol handelt (z. B. nach Application von Phenol auf die Haut, Wunden oder Einbringung in den Magen). Enthält das Destillat viel Kresol (Destillate aus dem Harn, faulenden Flüssigkeiten), so ist es zweckmässig, grossen Ueberschuss von Bromwasser zu vermeiden, 2 bis 3 Tage stehen zu lassen vor dem Abfiltriren. Die Bestimmung ist in allen Fällen nicht genau, sondern stets das erhaltene Gewicht zu gering. Statt direct den Niederschlag zu trocknen und zu wägen, kann man ihn in Aether-Alkohol lösen, über Schwefelsäure verdunsten lassen und den trocknen Rückstand wägen; das Resultat ist aber auch nicht genauer. Drei Methoden der Titrirung des Phenol sind vorgeschlagen, die erste mit bromsaurem Kali, Bromkalium, Salzsäure und unterschwefligsaurem Natron nach Koppeschaar*), für technische Zwecke verwendbar, die zweite von Giacosa**) mit Bromwasser, Jodkalium und Stärkekleister, endlich die Methode von Chandelon***) mit unterbromigsaurem Kali und Jodkaliumkleister. Sie können nach dem geschilderten Verhalten keine genauen Werthe für Harn oder Destillate faulender Flüssigkeiten geben und werden bei Phenolvergiftung noch am besten verwendet werden können.

Für die Trennung von Phenol, Parakresol und Orthokresol hat

---

*) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 15. S. 223.
**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 43.
***) Bull. de la soc. chim. de Paris. 1882.

sich die Ueberführung derselben durch concentrirte Schwefelsäure in Sulfosäuren und Darstellung der Barytsalze derselben bewährt. Die Destillate, welche Phenol und Kresole enthalten, werden hierzu mit Aetzkali stark alkalisch gemacht, eingedampft, dann angesäuert, mit Aether mehrmals ausgeschüttelt, die abgetrennte Aetherlösung verdunstet, der Rückstand mit Chlorcalcium getrocknet und destillirt. Die im Destillat erhaltenen Phenole werden darauf mit dem gleichen Gewicht concentrirter Schwefelsäure eine Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, dann mit Wasser verdünnt, mit Baryt neutralisirt, filtrirt, bis nahe zur Krystallisation eingedampft und mit überschüssigem concentrirten Barytwasser versetzt. Nach 12stündigem Stehen wird das abgeschiedene basische parakresolsulfosaure Barium abfiltrirt, das Filtrat durch CO_2 vom überschüssigen Baryt befreit, filtrirt, auf kleines Volumen abgedampft, abermals mit concentrirtem Barytwasser gefällt und nach 12 Stunden abfiltrirt. Das Filtrat wird durch einen Kohlensäurestrom von überschüssigem Baryt befreit und die filtrirte Flüssigkeit zur Trockne verdampft, der Rückstand, enthaltend das paraphenolsulfosaure und das orthokresolsulfosaure Barium, gewogen. Die Niederschläge von basisch parakresolsulfosaurem Barium werden in Wasser zertheilt, mit CO_2 behandelt, filtrirt, das Filtrat verdunstet, getrocknet und gewogen giebt das Gewicht des neutralen parakresolsulfosauren Barium.

Sowohl aus dem Harn von Menschen, Pferden u. s. w., als auch aus faulenden Lösungen von Eiweiss, Tyrosin hat Parakresol die Hauptmenge der mit den Wasserdämpfen bei der Destillation übergehenden Phenolgemische ausgemacht. Orthokresol ist nur durch Bildung von Salicylsäure beim Schmelzen mit Aetzkali nachgewiesen. Dieselbe kann von der beim Schmelzen mit Aetzkali aus dem Parakresol entstehenden Paroxybenzoësäure durch Chloroform getrennt werden, da sich nur Salicylsäure löst. Die in Wasser gelöste und mit verdünnter Schwefelsäure angesäuerte Kalischmelze der Phenole wird mit Aether ausgeschüttelt, der Verdunstungsrückstand der Aetherlösung mit Chloroform ausgezogen, filtrirt und verdunstet.

Phenol schmilzt bei 42°, siedet bei 181,5°, löst sich in 15 Theilen Wasser bei gewöhnlicher Temperatur, färbt sich in nicht allzu verdünnter wässeriger Lösung mit Eisenchlorid violett; dieselbe Färbung erfahren damit seine sulfosauren Salze.

Parakresol schmilzt bei 36°, siedet bei 199°, ist schwer löslich in Wasser, wird in wässeriger Lösung von Eisenchlorid blau gefärbt.

Orthokresol schmilzt bei 31—31,5°, siedet bei 185—186°.

Brenzcatechin und Hydrochinon $C_6H_6O_2$ *).

130. Brenzcatechin findet sich im Menschenharn stets in kleinen Mengen, reichlicher im Pferdeharn, fehlt aber im Harn von Thieren, die allein mit Fleisch gefüttert sind. Hydrochinon ist nur im Harn von Menschen und Thieren gefunden, denen Benzol oder Phenol beigebracht war, vielleicht enthält auch der normale Harn sehr geringe Spuren davon. Resorcin ist in Organismen nicht gefunden.

Um aus dem Harne Brenzcatechin zu erhalten, wird derselbe stark mit Salzsäure angesäuert, $^1/_2$ Stunde auf siedendem Wasserbade digerirt, nach dem Erkalten mehrmals mit Aether extrahirt. Die Aetherlösungen werden mehrmals mit verdünnter Sodalösung geschüttelt, so lange diese noch gefärbt wird, um die Säuren zu entfernen, dann der Aether abdestillirt, der Rückstand mit gesättigter Lösung von NaCl oder Na_2SO_4 versetzt, um Phenol und Kresol abzuscheiden, filtrirt, die mit Wasser verdünnte Lösung destillirt, um Phenol und Kresol ganz zu entfernen, nach dem Erkalten mit Aether extrahirt. Beim Verdunsten der abgegossenen Aetherauszüge bleiben Brenzcatechin und Hydrochinon als Syrup zurück, der krystallinisch erstarrt, wenn nicht sehr wenig Hydrochinon sich darin befindet. Dieser Rückstand in Wasser gelöst wird dann mit Bleiacetat gefällt, so lange Niederschlag entsteht, mit Vermeidung eines Ueberschusses vom Reagens. Hierdurch wird Brenzcatechin gefällt, Hydrochinon nicht. Der Bleiniederschlag wird in Wasser zertheilt, mit Schwefelsäure zerlegt, mit Aether geschüttelt. Beim Verdunsten der abgegossenen Aetherlösung bleibt Brenzcatechin in kaum gefärbten Prismen zurück, wenn seine Quantität nicht sehr gering ist. Die vom Bleiniederschlag abfiltrirte Flüssigkeit wird angesäuert und mit Aether extrahirt. Nach dem Verdunsten der abgegossenen Aetherlösung bleibt bei Anwesenheit von Hydrochinon ein gelber bis brauner Rückstand, der bald krystallinisch erstarrt. Durch Umkrystallisiren aus heissem Benzol oder Toluol wird das Hydrochinon rein gewonnen.

Brenzcatechin schmilzt bei 104°, siedet ohne Zersetzung bei 245,5° und sublimirt schon vorher zu glänzenden Krystallblättchen. Es löst sich leicht in Wasser, Alkohol, Aether, wird durch neutrales Bleiacetat gefällt. Durch Eisenchlorid wird seine wässerige Lösung grün, bei nachherigem Zusatz von Natriumbicarbonat oder Ammoniak violett

---

*) E. Baumann, a. a. O.

gefärbt. Mit salpetersaurem Silber und etwas Ammoniak tritt Reduction von Silber ein. Durch Aetzalkali werden seine Lösungen unter Braunfärbung zersetzt. Hydrochinon schmilzt bei 169°, löst sich 1 Theil in 17 Theilen Wasser bei 15°, leicht in Alkohol oder Aether. Es wird durch oxydirende Substanzen, z. B. beim Kochen mit Eisenchlorid, in Chinon verwandelt, dessen eigenthümlicher starker Geruch es leicht erkennen lässt. Das Chinon sublimirt schon bei gewöhnlicher Temperatur und bildet goldgelbe Prismen. Wässerige Lösung von Hydrochinon reducirt Silber aus Silbernitratlösung sogleich in der Kälte und wird durch Ammoniak braun gefärbt. Erhitzt man eine kleine Portion Hydrochinon im offenen Probirrohre, so färbt sich das Sublimat indigblau.

Indol C_8H_7N.

131. Indol wurde zuerst von Baeyer*) durch Destillation der Producte starker Reduction von Indigo oder Isatin mit Zinkstaub, darauf durch Schmelzen von Orthonitrozimmtsäure mit Aetzkali unter Zusatz von Eisenfeilspänen, dann von Baeyer und Caro**) reichlicher beim Durchleiten von Orthodiäthyltoluidin durch ein glühendes Rohr gewonnen. Von Kühne***) und von Nencki†) wurde Indol meist neben Skatol durch Fäulniss von Eiweissstoffen oder Schmelzen derselben mit Aetzkali erhalten. In Fäces und Darminhalt von Menschen und Thieren findet sich Indol entweder neben Skatol oder ohne dasselbe sehr häufig und ist im Darmcanal offenbar durch Fäulnissprocesse gebildet††), scheint jedoch eben so wenig wie Skatol hierbei direct aus den Eiweissstoffen zu entstehen, sondern erst durch Zersetzung einer in alkoholhaltigem Aether löslichen Substanz†††). Aus Tyrosin und seinen Derivaten ist es noch nicht gelungen Indol darzustellen.

Zur Darstellung von Indol schreibt Nencki vor: 300 Grm. käufliches Eiweiss aus Blut mit 4½ Liter Brunnenwasser und einem gereinigten, fein zerschnittenen Ochsenpankreas versetzt, werden im Becherglase mit Glasplatte bedeckt 60—70 Stunden bei 40—45°

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 140. S. 295 und Suppl.-Bd. 7. S. 56. Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 1. S. 17 u. Bd. 3. S. 885.

**) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 10. S. 1262.

***) Ebendas. Bd. 8. S. 206.

†) Ebendas. Bd. 8. S. 336.

††) Tappeiner, Ebendas. Bd. 14. S. 2382.

†††) Baumann, Ebendas. Bd. 13. S. 284.

digerirt. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit colirt, mit Essigsäure angesäuert, dann auf dem Sandbade aus tubulirter Retorte auf 1/4 des ursprünglichen Volumen abdestillirt. Das filtrirte saure Destillat wird mit Kalkhydrat alkalisch gemacht und mit dem gleichen Volumen Aether geschüttelt. Von der abgegossenen Aetherlösung wird der Aether abdestillirt. Das zurückbleibende röthliche Oel erstarrt nach einiger Zeit krystallinisch und wird aus reinem Wasser umkrystallisirt. Um Phenol von Indol zu trennen, wird die wässerige Lösung mit Aetzkali in geringem Ueberschuss versetzt und destillirt, Phenol bleibt am Kalium gebunden zurück, Indol (und etwa vorhandenes Skatol) destilliren mit den Wasserdämpfen über. Hinsichtlich der Trennung von Skatol vergleiche folgenden Paragraphen. Relativ reichlich erhielt Brieger*) Indol bei der Fäulniss von Leber mit etwas Pankreas unter häufiger Neutralisation der sauren Masse mit Ammoniumcarbonat. Odermatt**) gewann am Reichlichsten Indol bei der Fäulniss von gleichen Theilen Fibrin und Pankreas.

Indol gehört der Orthoreihe der aromatischen Verbindungen zu. Es krystallisirt in farblosen, der Benzoësäure ähnlichen Tafeln, schmilzt bei 52°, ist für sich bei Atmosphärendruck nicht unzersetzt destillirbar, löst sich in heissem Wasser leichter als in kaltem, geht bei Destillation dieser Lösungen mit den Wasserdämpfen über, besitzt einen eigenthümlichen unangenehmen Geruch, löst sich leicht in Alkohol, Aether, Benzol, Ligroin, und wird durch letztere Flüssigkeiten beim Schütteln wässerigen Lösungen entzogen. Durch Erhitzen mit concentrirten Alkalilaugen wird es zersetzt. Mit Salpetersäure, die salpetrige Säure enthält, giebt Indol eine noch bei sehr starker Verdünnung gut erkennbare Rothfärbung, und ist die Verdünnung nicht sehr stark, so bildet sich bald ein rother Niederschlag, salpetersaures Nitrosoindol $C_{16}H_{13}(NO)N_2, NO_3H$ nach Nencki***), der sich leicht in Alkohol, sehr wenig in Wasser, gar nicht in Aether löst, sehr zersetzlich ist und trocken erhitzt verpufft. Indol färbt in alkoholischer Lösung einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspahn in kurzer Zeit kirschroth. Es verbindet sich mit concentrirter Säure, nicht mit verdünnter, verhält sich wie eine schwache Base. Bringt man Indol und Pikrinsäure, beide in Benzol gelöst, zusammen, so scheidet sich

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 141.
**) Diss. Bern. 1878.
***) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 8. S. 723.

die Verbindung von 1 Mol. Indol mit 1 Mol. Pikrinsäure in langen, rothen, stark glänzenden Krystallen ab, die in kaltem Benzol schwer löslich sind, ebenso in Ligroin, aus heissem Benzol gut umkrystallisirt werden können. Man zerlegt diese Verbindung zur Gewinnung des Indol durch Ammoniak, destillirt entweder im Wasserdampfstrome oder schüttelt die Lösung mit Ligroin aus, welches das Indol aufnimmt und beim Verdunsten in grossen gekrümmten, atlasglänzenden Krystallblättern zurücklässt. Durch Erhitzen mit mässig starker Natronlauge wird Indol zersetzt.

Zum Nachweis des Indol dienen die angegebenen Reactionen.

Skatol C_9H_9N.

132. Wie das Indol bildet sich auch Skatol*) sowohl bei der andauernden Fäulniss von Eiweissstoffen als auch beim Schmelzen derselben mit Aetzkali und bei dem Destilliren der Reductionsproducte von Indigblau mit Zinkstaub; es ist endlich neben CO_2 als Zersetzungsproduct der Skatolcarbonsäure dargestellt. Von Brieger als Bestandtheil der menschlichen Fäcalstoffe erkannt, ist es dann im Darm-, besonders Dickdarminhalt von Menschen und Thieren sehr häufig in Begleitung von Indol aufgefunden; es bildet sich später bei der Fäulniss als Indol, doch sind die Verhältnisse seiner Entstehung noch nicht genügend bekannt. Aus 8 Tage lang gefaulter Gehirnsubstanz erhielt Nencki Skatol neben Spuren von Indol, bei andauernder Fäulniss von Muskelfleisch und Pankreas ohne Indol.

Wie Indol krystallisirt Skatol in farblosen Blättchen, hat einen stechenden Geruch, schmilzt bei 90–94°, löst sich viel schwerer in Wasser als Indol, geht aber wie dies bei der Destillation mit den Wasserdämpfen über, löst sich leicht in Alkohol, Aether, Chloroform, giebt mit salpetrige Säure enthaltender Salpetersäure keine Rothfärbung, sondern weissliche Trübung der wässrigen Lösung, wird beim Erhitzen mit mässig starker Natronlauge nicht zersetzt, färbt einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspahn nicht roth. Mit verdünnter Salpetersäure oder Salzsäure erwärmt giebt es violette Färbung. Seine Lösung in Benzol mit in Benzol gelöster Pikrinsäure versetzt, giebt

---

*) Brieger, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 414. Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 10. S. 1031 u. Bd. 12. S. 1985. Nencki, Ebendas. Bd. 13. S. 2002. Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 17. S 97. u Bd. 19. S 466. Zeitschr. f physiol. Chem. Bd. 4. S. 371. Baeyer, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd 13. S. 2339.

krystallinischen Niederschlag der pikrinsauren Verbindung wie Indol. Hunden oder Kaninchen in den Magen oder unter die Haut gebracht, geht es in Skatoxyl über und erscheint mit Schwefelsäure gepaart als skatoxylschwefelsaures Kalium im Urine.

Die Gewinnung des Skatol ist von der des Indol nicht verschieden. Zur Trennung von letzterem benutzt man seine geringere Löslichkeit in Wasser, leichtere Ausfällbarkeit durch Zusatz von Wasser zur alkoholischen Lösung und Beständigkeit beim Kochen mit mässig starker Natronlauge. Der Nachweis stützt sich auf den von Indol sehr verschiedenen Schmelzpunkt und die angegebenen Reactionen. Zur Reinigung empfiehlt sich die Darstellung der pikrinsauren Verbindung.

Indoxyl C_8H_7NO.

133. Indoxyl wurde von Baumann und Brieger*) durch Zerlegung von indoxylschwefelsaurem Kali (aus Hundeharn nach Indolfütterung erhalten), mit Salzsäure als bald sich zersetzende ölige Streifen und Tropfen dargestellt, dann von Baeyer**) aus Indoxylsäure durch Erhitzen bis zu ihrem Schmelzpunkt oder Kochen mit Wasser unter Kohlensäureentwickelung gewonnen. Das Indoxyl ist sehr zersetzlich, entwickelt mit verdünnten Säuren einen unangenehmen Geruch und wandelt sich in eine amorphe, rothe Substanz um. In concentrirter Schwefelsäure oder Salzsäure ist es beständiger. Seine Lösung giebt bei Zusatz von Eisenchlorid schon in der Kälte Indigblau, ebenso bei Zusatz von Ammoniak bis zur alkalischen Reaction. Bei Zusatz von Natriumcarbonat und Isatin bildet sich Indirubin. Eine concentrirte Lösung von Indoxyl in Kalilauge mit pyroschwefelsaurem Kali behandelt, bildet indoxylschwefelsaures Kali. Alkalische Lösung von Indoxyl lässt allmälig an der Luft Indigblau entstehen. Mit Eisenchlorid ohne Säurezusatz giebt es eine weisse amorphe Substanz, welche mit Salzsäure sofort Indigo entstehen lässt.

Skatoxyl C_9H_9NO***) entsteht bei der im menschlichen Harne vorkommenden Skatoxylschwefelsäure durch Säuren und giebt bei dieser Spaltung einen rothen Farbstoff, der mit Zinkstaub erhitzt Skatol liefert.

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 254.

**) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 14. S. 1744.

***) Brieger, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 414. Ber. d. chem. Gesellschaft. Bd. 10. S. 1031.

Indirubin $C_{16}H_{10}N_2O_2$.

134. Das Indirubin*), isomer mit Indigblau, findet sich im käuflichen Indigo, bildet sich neben Indigblau bei der Zersetzung von Indoxylschwefelsäure im Harne durch Salzsäure und mässiger Oxydation und ist im reinen Zustande in braunrothen, glänzenden Nadeln von Baeyer**) erhalten durch Einwirkung von Indoxyl auf Isatin in Alkohol bei Zusatz von Natriumcarbonat, früher bereits reichlich durch Reduction von Isatinchlorid mit Zinkstaub dargestellt. Auch aus Isatin entsteht es durch Reduction.

Indirubin löst sich leicht in Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform, Eisessig und wird aus der essigsauren Lösung durch Wasser und Natriumcarbonat gefällt. Aus Chloroform krystallisirt es in verzweigten Nadeln. Beim Verdünnen der alkoholischen Lösung mit Wasser scheidet es sich in krystallinischen Flocken aus. Es widersteht der Oxydation kräftiger als Indigblau. Bei der spectroskopischen Untersuchung zeigen alkoholische Lösungen des Indirubin keine deutlichen Absorptionsstreifen.

Indigblau $C_{16}H_{10}N_2O_2$.

135. Als Oxydationsproduct von Indoxyl findet sich Indigblau hier und da an der Oberfläche von faulendem Harn abgeschieden als kupferroth metallisch glänzendes, dünnes Häutchen. Es bildet sich ferner nicht selten nach Zusatz starker Mineralsäuren zum Urin, besonders Pferdeharn und wird gewöhnlich aus dem Harne erhalten durch Zusatz des gleichen Volumen einer etwas chlorhaltigen Salzsäure, indem hierdurch die im Harne vorhandene Indoxylschwefelsäure gespalten und das Indoxyl sogleich zu Indigblau oxydirt wird. Käuflicher Indigo, aus Pflanzen dargestellt, entsteht auf unbekannte Weise, doch entschieden gleichfalls durch eine Oxydation aus einer im Pflanzenreiche weit verbreiteten Substanz, die mit Indoxylschwefelsäure nicht übereinstimmt.

Auf sehr verschiedene Weise kann Indigblau aus Indolverbindungen dargestellt werden. Es bildet sich durch Einwirkung von Indigweiss $C_{16}H_{12}N_2O_2$ auf indifferenten Sauerstoff unter Austritt von Wasser. Es entsteht ferner durch Einwirkung von Ozon auf Indol in geringer Menge, ausserdem durch Einwirkung reducirender Stoffe auf Isatin, Amidooxindol, Isatinchlorid u. s. w. Orthonitrophenylpropiolsäure in verdünnter Natronlauge oder Lösung von Aetzbaryt oder Natrium-

*) Schunk, Mem. of Manchester Phil. Soc. 2. Ser. T. 14. p. 185.
**) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 12. S. 457. u. Bd. 14. S. 1745.

carbonat zum Sieden erhitzt und mit etwas Traubenzucker oder Milchzucker versetzt, giebt Abscheidung von krystallinischem Indigblau*). Dasselbe ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, verdünnten Säuren und Alkalien, sehr wenig löslich in Chloroform, löslich in Anilin. Gegen 300° verflüchtigt es sich, bildet schön purpurroth gefärbten Dampf und schlägt sich an kühleren Stellen in prismatischen Krystallen wieder nieder, die kupferrothen Metallglanz zeigen und im durchfallenden Lichte tief blau erscheinen. Beim Sublimiren zersetzt sich ein Theil des Indigo zu Kohle, CO_2 und Anilin. Mischt man feinpulveriges Indigblau mit Eisenvitriol, überschüssigem gelöschten Kalk und ausgekochtem Wasser in einer ganz damit gefüllten Flasche und lässt stehen, so geht es in Indigweiss über, lässt man dann die mit Heber klar abgezogene Lösung ruhig an der Luft stehen, so scheidet sich Indigblau wieder ab. Auch durch Mischung in verschlossener gefüllter Flasche von Indigblau mit heissem Alkohol, sehr starker Natronlauge und etwas Traubenzucker erhält man Indigweiss. Beim Stehen dieser Mischung an der Luft scheidet sich Indigo in Krystallen aus. Ein oder mehre Atome Wasserstoff in der Benzolgruppe des Indigblau können ohne wesentliche Aenderung der Farbe durch andere Atome oder Atomgruppen (Br, NH_2, SO_3H) substituirt werden, während die Anfügung von 2 Atomen Wasserstoff an die chinonähnlich angefügten und mit einander verbundenen Sauerstoffatome sofort die blaue Farbe verschwinden lässt. Unter den Substitutionsproducten des Indigo sind von besonderer Wichtigkeit die Indigblauschwefelsäure $C_{16}H_8N_2O_2(SO_3H)_2$ und Phöniciinschwefelsäure $C_{16}H_9N_2O_2, SO_3H$, welche beide durch Erwärmen von pulverigem Indigblau mit concentrirter Schwefelsäure und Eintragen der Lösung in Wasser dargestellt werden. Die Phöniciinschwefelsäure scheidet sich aus der sauren Lösung in Flocken aus, löst sich aber in destillirtem Wasser. Die Lösungen dieser Sulfosäuren geben ihren Farbstoff an eingelegte Wollenfäden ab, werden beim Erhitzen mit Salpetersäure entfärbt, mit etwas Traubenzucker und Natriumcarbonat im Ueberschusse versetzt, beim Kochen entfärbt (Bildung von Indigweissschwefelsäure), beim nachherigen Schütteln mit Luft wieder blau gefärbt. Die Lösungen der Indigblau- und der Phöniciinschwefelsäure und ihrer Alkaliverbindungen absorbiren sehr kräftig das Licht zwischen den Frauen-

---

*) Ad. Baeyer, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 11. S. 1228 u. 1296. Bd. 12. S. 456. Bd. 13. S. 2258. Bd. 14. S. 1741. Sommaruga, Ebendas. Bd. 11. S. 1355.

hofer'schen Linien C und D; nahe vor letzterer Liniengruppe und bei hinreichender Dicke der Schicht greift der Absorptionsstreifen über D nach dem Gelbgrün hinüber.

Zum Nachweis von Indigblau eignet sich besonders die Sublimirbarkeit und Bildung purpurrother Dämpfe beim starken Erhitzen im trocknen Probirrohr, das beschriebene Verhalten gegen stark alkalische Traubenzuckerlösung, Wiederblaufärbung der Mischung beim Schütteln mit Luft, Löslichkeit des Indigblau beim Erwärmen mit concentrirter Schwefelsäure und das geschilderte Verhalten der wässrigen Lösung dieser Mischung. Um diese Proben anzustellen, sammelt man den zu prüfenden Farbstoff auf einem in die Trichterenge dicht eingesetzten Asbestpfropf an Stelle des Papierfilters, wäscht mit Wasser, dann mit Alkohol (Lösung des fast stets zugleich vorhandenen Indirubin), trocknet und benutzt Theile dieses Pfropfes zu den Reactionen.

Skatoxyl giebt bei Spaltung und gleichzeitiger Oxydation der Skatoxylschwefelsäure einen dem Indigblau wahrscheinlich entsprechenden, mehr violetten Farbstoff, der nicht näher untersucht ist und dem käuflichen Indigo beigemengt zu sein scheint.

Skatolcarbonsäure C_9H_8N, CO_2H*)

136. entsteht bei andauernder Fäulniss von Fibrin und andern Eiweissstoffen (aus 8 Kilo feuchten Fibrins 1.6 Grm. erhalten). Die gefaulten Massen werden im Wasserdampfstrome destillirt zur Entfernung der fetten Säuren, darauf die ausgeschiedenen harzigen Massen abfiltrirt. Nach 24stündigem Stehen tritt Abscheidung weisser Körnchen der Skatolcarbonsäure ein. Der in Lösung gebliebene Theil der Säure geht beim Ausschütteln mit Aether in diesen über zusammen mit den aromatischen Oxysäuren. Von letzteren die Skatolcarbonsäure zu trennen, gelang nur durch Behandlung des Gemisches mit zur vollständigen Lösung unzureichenden Quantitäten Wasser. Sie wird nach dieser Abtrennung aus heissem Wasser oder aus heissem Benzol umkrystallisirt und in weissen Körnern oder Warzen erhalten. Ihr Schmelzpunkt ist 164°; höher erhitzt zerfällt sie in Skatol und CO_2.

Aromatische Aetherschwefelsäuren.

137. Aetherschwefelsäuren aromatischer Hydroxylverbindungen treten im Harne auf, wenn in das Blut entweder durch Resorption

*) E. u. H. Salkowski, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 13. S. 2217.

vom Darme her oder durch die Haut resorbirt oder nach Injection unter die Haut diese Hydroxylverbindungen selbst (Phenol, Kresol u. s. w.) eingebracht sind, oder in den Organismus Stoffe gelangt sind, die in ihm zu solchen Hydroxylverbindungen umgewandelt werden (Benzol. Indol, Paroxybenzoesäure, Tyrosin u. s. w.). Die durch Fäulnissprocesse im Darmcanal gebildeten Phenol, Kresol, Indol, Skatol treten als Aetherschwefelsäuren im Harne auf.

Diese aromatischen Aetherschwefelsäuren werden aus dem Harne erhalten als Kaliumverbindungen, synthetisch dargestellt durch Einwirkung von pyroschwefelsaurem Kalium auf die Kaliumverbindung der Paarlinge z. B. $C_6H_5, OK + K_2S_2O_7 = C_6H_5O, SO_2, OK + K_2SO_4$. Sie wurden zuerst aufgefunden, dargestellt und synthetisch gebildet von Baumann*). Die freien Aethersäuren sind sehr unbeständig, selbst die krystallisirten Salze zersetzen sich leicht allmälig an feuchter Luft. Bei 150—160° gehen viele derselben durch Umlagerung in die Salze der isomeren und beständigeren Sulfosäuren über z. B. $C_6H_5O, SO_2, OK = C_6H_4 \begin{cases} OH \\ SO_3K. \end{cases}$ In Wasser sind die Salze dieser Aethersäuren leicht, in heissem Alkohol schwer, in kaltem absoluten Alkohol gar nicht löslich. Kochen mit stark alkalischen Lösungen zersetzt sie wenig oder gar nicht, dagegen zersetzen sie sich beim Erhitzen mit Wasser über 100° sehr bald. Fäulniss greift sie schwierig oder gar nicht an. kurzes Erhitzen mit verdünnten organischen Säuren zerlegt sie nicht bemerkbar, dagegen werden sie durch Kochen mit Mineralsäuren schnell unter Betheiligung von je 1 Mol. H_2O für jedes Aequivalent abgespaltener Säure zu Hydroxylverbindung und saurem schwefelsauren Salz zersetzt. Es krystallisiren ihre Kaliumsalze in rhombischen Tafeln ähnlich dem Cholesterin.

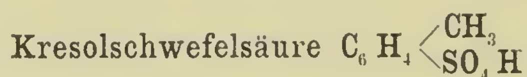
Phenolschwefelsäure C_6H_5, SO_4H.

138. Geringe Mengen von phenolschwefelsaurem Kalium finden sich stets im Harne von Pferden, sehr häufig in sehr geringen Mengen auch im Harne von Menschen, Hunden, reichlich im Harne von Menschen und Thieren, denen Phenol auf die Haut oder in Wunden oder in den Darm gebracht ist, auch bei energischer Fäulniss im Darme, besonders nach Einbringung von Tyrosin. Zur Darstellung dieses

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 12. S. 69. Bd. 13. S. 285. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. S. 60. Bd 2. S. 335. Bd. 3. S. 250. Baumann u. Herter, Ebendas. Bd 1. S. 244. Baumann, Ebendas. Bd. 6. S. 183.

Kaliumsalzes werden nach Baumann 8—10 Liter Harn von Hunden, denen täglich mehrere Gramme Phenol beigebracht sind, zum Syrup verdunstet und der Rückstand mit 96 procentigem Alkohol aufgenommen, das alkoholische Filtrat kalt mit einer Lösung von Oxalsäure in Alkohol versetzt, so lange Niederschlag entsteht, nach 10 Minuten filtrirt, mit Aetzkali bis zur schwach alkalischen Reaction versetzt, filtrirt und der beim Verdunsten erhaltene Syrup recht kalt, am Besten unter 0° stehen gelassen. Von der sich abscheidenden blättrigen Krystallmasse wird die Mutterlauge abgesaugt und die Krystalle aus kochendem Alkohol umkrystallisirt.

Synthetisch erhält man phenolschwefelsaures Kalium durch Zusammenbringen von 100 Theilen Phenol mit 80 bis 90 Theilen Wasser und 60 Theilen Aetzkali in einem geräumigen Kolben, Mischung der Masse und Zusatz von 125 Theilen feingepulvertem Kaliumpyrosulfat allmälig in kleinen Portionen, sobald die Mischung bis auf 60—70° erkaltet ist. Man digerirt bei 60—70° 8—10 Stunden unter häufigem Umschütteln, extrahirt dann die Masse mit siedendem 95 procentigem Alkohol, filtrirt und krystallisirt das sich als Krystallbrei ausscheidende phenolschwefelsaure Kalium aus heissem Alkohol um. Die Ausbeute beträgt 25—30 pCt. von der Menge des angewendeten Phenols. Die Reaction verläuft bei 60—70° am schnellsten. Die Flüssigkeit soll bei derselben eine grünliche sein und nie saure Reaction eintreten (gelbrothe Färbung), da sich sonst die gepaarte Schwefelsäure zersetzt. Aus warm gesättigtem Weingeist krystallisirt das Salz beim Erkalten in grossen wasserhellen Tafeln.



Kresolschwefelsäure $C_6H_4\langle{}^{CH_3}_{SO_4H}$

139. Im Pferdeharn und wahrscheinlich im Harne vieler anderen Säugethiere findet sich Kresolschwefelsäure und zwar hauptsächlich die Parakresolverbindung reichlicher als Phenolschwefelsäure neben sehr wenig der Ortho- und vielleicht auch Metaverbindung*). Die Darstellung der Kaliumverbindung aus dem Harne geschieht in derselben Weise, wie es im vorigen Paragraphen für das phenolschwefelsaure Kalium geschildert ist, ebenso die synthetische Gewinnung.

Bisweilen ist der Pferdeharn so reich an kresolschwefelsaurem Kalium, dass dasselbe nach Eindampfen des Harns zum Syrup beim Stehen des letzteren in der Kälte auskrystallisirt. Diese Krystallisation

*) Preusse, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2. S. 355.

tritt leichter ein, wenn der zum Syrup verdunstete Harn mit Alkohol aufgenommen, der Alkoholauszug zum dünnen Syrup verdunstet und bei Winterkälte einer Temperatur von unter 0^{0} mehrere Tage lang ausgesetzt wird.

Brenzcatechinschwefelsäuren $C_6H_4 \langle {OH \atop SO_4H}$ und $C_6H_4, (SO_4H)_2$.

Die Kaliumverbindung der Brenzcatechinmonätherschwefelsäure bildet ganz den Salzen der Aetherschwefelsäuren vom Phenol und Kresol ähnliche fettige rhombische Blättchen, die leicht löslich in Wasser, das brenzcatechindischwefelsaure Kalium stellt dagegen ein in Alkohol nicht lösliches Krystallpulver dar*). Aetherschwefelsaures Salz vom Brenzcatechin findet sich stets im Pferdeharne, häufig auch im Menschenharne, besonders nach Einführung von Phenol. Im letzteren Falle findet sich im Harne zugleich etwas hydrochinonschwefelsaures Salz. Eine Isolirung dieser Verbindungen aus dem Harne ist noch nicht ausführbar. Die brenzcatechinmonoschwefelsauren Salze geben in wässeriger Lösung mit Eisenchlorid eine violette Färbung, die dischwefelsauren Verbindungen keine bestimmte Färbung.

Zum Nachweis dieser Aetherschwefelsäuren wird der Harn auf kleineres Volumen eingedampft und mit Aether ausgeschüttelt, Phenol, Kresole werden, wenn vorhanden, dabei verdampfen und die Dihydroxylverbindungen in den Aether übergehen. Wird dann der Harn mit starker Salzsäure destillirt, bis $^1/_3$ der Flüssigkeit übergegangen ist, und der Rückstand nach dem Erkalten mit Aether ausgezogen, so werden die Phenole, welche mit Schwefelsäure gepaart im Harne enthalten sind, in's Destillat, und die Dihydroxylbenzole (Brenzcatechin, Hydrochinon) in die ätherische Lösung übergehen. Die Untersuchung der Destillate und Aetherauszüge geschieht nach den in § 129 u. 130 gegebenen Gesichtspunkten.

Indoxylschwefelsäure C_8H_6N, SO_4H.

Das Indican des Harns.

140. Indoxylschwefelsaures Kalium wurde von Baumann und Brieger**) in cholesterinähnlichen, rhombischen, blätterigen, farblosen Krystallen aus dem gesammelten Harne eines grossen Hundes dargestellt, dem sie gegen 20 Grm. Indol im Laufe von 5 Tagen in den

*) Baumann, a. a. O.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 254.

Magen gebracht hatten. Der Harn war zur Krystallisation eingedampft, die von Salzen und Harnstoff getrennte braunrothe Mutterlauge wurde mit 90procentigem Alkohol extrahirt, der alkoholische Auszug mit alkoholischer Oxalsäurelösung in der Kälte versetzt, so lange Niederschlag entstand, nach 10 Minuten abfiltrirt, das Filtrat sofort mit alkoholischer Kalilösung bis zur schwach alkalischen Reaction versetzt, das abgeschiedene Kaliumoxalat abfiltrirt, die Lösung eingeengt, mit dem gleichen Volumen Aether versetzt. Der Niederschlag enthielt den grössten Theil der Indoxylschwefelsäure, aber sehr unrein. Er wurde mehrmals mit 96procentigem Alkohol ausgekocht und die Lösungen erst mit gleichem Volumen Aether gefällt, dann noch weiterhin mit Aether gefällt. Durch wiederholtes Lösen in Alkohol und Fällen mit grossen Mengen Aether wurde das indoxylschwefelsaure Kalium rein erhalten, schliesslich mehrmals aus siedendem Alkohol umkrystallisirt.

Das indoxylschwefelsaure Kalium ist farblos, sehr löslich in Wasser, schwer in kaltem, leichter in heissem Alhohol löslich; die Krystalle gleichen denen des phenol- oder kresolschwefelsauren Kalium. Beim Erwärmen der wässerigen Lösung mit verdünnter Salzsäure wird die Indoxylschwefelsäure gespalten in Schwefelsäure und Indoxyl, das letztere scheidet sich in öligen Streifen und Tropfen aus, die sich selbst bei völligem Ausschluss des atmosphärischen Sauerstoffes unter Rothfärbung der Flüssigkeit schnell zersetzen. Wirkt gleichzeitig mit der Salzsäure eine mässig oxydirende Substanz, am Besten ein wenig Eisenchlorid, so färbt sich die Flüssigkeit langsam in der Kälte, schneller beim Erwärmen grün, dann blau, und es schlägt sich Indigoblau nieder, welches etwas von jenem rothen Farbstoff enthält. Bei der einfachen Spaltung durch Salzsäure tritt mit dieser Färbung und Abscheidung öliger Tropfen zusammen ein eigenthümlicher, von Indol und Skatol verschiedener Fäcalgeruch auf, der alsbald wieder verschwindet, wenn die öligen Streifen verschwunden sind und ein amorpher, brauner, in Wasser unlöslicher, in Alkohol, Aether, Chloroform löslicher Körper, bei Luftzutritt auch etwas Indigo sich niedergeschlagen hat.

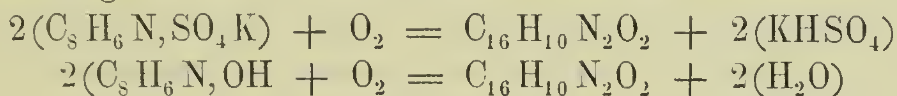
Von Baeyer*) wurde synthetisch durch Einwirkung von pyroschwefelsaurem Kalium auf eine kalische Lösung von Indoxyl indoxylschwefelsaures Kalium mit den von Baumann geschilderten Eigenschaften dargestellt.

Indoxylschwefelsaures Kalium in wässeriger Lösung auf 120—130°

---

*) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 14. S. 1744.

erhitzt zersetzt sich zu einem braunen Niederschlag, der rothen Farbstoff und Indigo enthält, Kaliumbisulfat bleibt in Lösung. Bei mehrstündigem Erhitzen von indoxylschwefelsaurem Kali mit Wasser und etwas Aetzkali auf 160° bis 170° wird keine Zersetzung bewirkt. Wird trocknes indoxylschwefelsaures Kali im Probirrohre rasch bis zum schwachen Glühen erhitzt, so entwickeln sich purpurrothe Dämpfe von Indigblau. Unreine Lösungen von indoxylschwefelsaurem Salz, wie sie die Harne von Menschen und Thieren, besonders Pflanzenfressern darstellen, geben Niederschläge von Indigblau bei Zusatz von starker Salzsäure, die etwas Chlor enthält, wie es die Methode des Nachweises der Indoxylschwefelsäure von Jaffé*) verlangt; hier ist Eisenchlorid als oxydirende Substanz nicht so zweckmässig. (Die Methode von Jaffé wird unten bei den Untersuchungen des Harnes beschrieben.) Die Bildung des Indigblau aus dem indoxylschwefelsauren Kalium oder dem abgespaltenen Indoxyl erfolgt nach den Gleichungen:



$$2(C_8H_6N,SO_4K) + O_2 = C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2(KHSO_4)$$
$$2(C_8H_6N,OH + O_2 = C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2(H_2O)$$

Skatolschwefelsäure C_9H_8N, SO_4H.

Von Brieger**) wurde aus dem Harne eines Hundes, dem reichlich Skatol beigebracht war, skatolschwefelsaures Kalium krystallisirt nach demselben Verfahren dargestellt, welches Baumann und Brieger zur Darstellung des indoxylschwefelsauren Salzes angewendet hatten. Dies Salz, nur in geringer Menge erhalten und deshalb nicht analysirt, entwickelte trocken erhitzt rothe Dämpfe, der Rückstand gab mit Chlorbarium Bariumsulfat. Die wässerige Lösung des dargestellten Salzes gab mit concentrirter Salzsäure einen rothen Farbstoff, unlöslich in Aether und Wasser, aber löslich in Alkohol, der beim Erhitzen mit Zinkstaub Skatol lieferte.

Aromatische Säuren.

Benzoësäure C_6H_5, CO_2H.

141. Benzoësäure findet sich im Harn zahlreicher pflanzenfressender Thiere (Pferde, Wiederkäuer, Pachydermen, Nager), wenn der-

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 3. S. 448.
**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd 4. S. 414.

selbe einige Zeit gestanden hat; sie entsteht hier allmälig durch fermentative Spaltung aus Hippursäure. Der menschliche Harn enthält meist nur sehr geringe Mengen davon nach mehrtägigem Stehen. Nach sehr reichlichem inneren Gebrauch von Benzoësäure soll auch ein Theil derselben unverändert in den Harn übergehen.

Man stellt Benzoësäure entweder durch vorsichtige Sublimation aus Benzoëharz oder aus dem Harne nach Spaltung der Hippursäure dar. Sie bildet, besonders die sublimirte Säure, grosse langgestreckte dünne, biegsame, farblose Tafeln von rechteckiger Form. Bei der Ausfällung der Benzoësäure aus Flüssigkeiten erhält man meist sehr schlecht begrenzte Krystalle. Sie schmelzen bei 120°, und die geschmolzene Säure siedet bei 250°. Die Dämpfe der Säure reizen die Schleimhaut des Mundes und der Nase, Sie löst sich leicht in Alkohol, Petroläther, Essigäther, auch leicht in Aether, schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser. Ihre Lösungen reagiren stark sauer. Ihre Verbindungen mit Alkalien, Kalk und Magnesia sind leicht löslich in Wasser, ihre Silber-, Blei-, Quecksilberverbindungen darin fast unlöslich. Benzoësaures Ammoniak verliert an der Luft Ammoniak. Mit neutralem Eisenchlorid geben neutrale Lösungen benzoësaurer Salze voluminöse Niederschläge von benzoësaurem Eisenoxyd. Kochen mit concentrirter Salzsäure greift die Säure nicht an, Kochen mit concentrirter Salpetersäure verwandelt sie in Nitrobenzoësäure. Mit Aetzalkali oder Natronkalk stark erhitzt, zersetzt sie sich zu CO_2 und Benzol. Dampft man wässrige Lösungen von freier Benzoësäure siedend ab, so verflüchtigt sich viel Benzoësäure mit den Wasserdämpfen. Mit etwas starker Salpetersäure in einer Porzellanschale stark eingekocht, giebt Benzoësäure beim stärkeren Erhitzen Geruch nach Bittermandelöl oder Nitrobenzol.

Wegen der Verflüchtigung mit den Wasserdämpfen dürfen saure Flüssigkeiten, auch Harn, nicht abgedampft werden ohne Zusatz von Natriumcarbonat. Den syrupartigen Verdampfungsrückstand extrahirt man dann zur Entfernung von Fett zunächst mit Aether, giesst denselben dann ab und schüttelt abermals mit Aether oder Petroläther aus nach Zusatz genügender Menge von Schwefelsäure. Hat man mehrmals mit Aether ausgezogen, so wird die Benzoësäure ganz in die Aetherlösung übergegangen sein, wenn die Säure sich nicht in sehr grosser Menge in der Flüssigkeit befindet. In solchen Aetherauszügen können sich hauptsächlich neben Benzoësäure befinden: fette Säuren, Oxalsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, Hippursäure. Spült man den Rückstand

des Aetherauszugs mit ein wenig kaltem Wasser ab, so wird Milchsäure, Essigsäure, Buttersäure entfernt; die letztern beiden können auch durch Digeriren auf dem Wasserbade entfernt werden. Durch Lösen in viel Wasser kann man die Benzoësäure von Palmitin-, Stearin-, Oelsäure trennen. Von Hippursäure trennt man sie durch Petroläther, in dem Hippursäure unlöslich ist, von Oxalsäure und Bernsteinsäure durch Unlöslichkeit der Calciumverbindungen derselben in Alkohol (Bernsteinsäure) oder Wasser (Oxalsäure). Bei Verdunsten ihrer Lösung in Petroläther erhält man die Benzoësäure gut krystallisirt.

Zu ihrem Nachweis dient ausser der Krystallform und der Löslichkeitsverhältnisse ihre Flüchtigkeit, das Verhalten beim Abdampfen mit Salpetersäure und Erhitzen des Rückstandes, die Bestimmung ihrer Sättigungscapacität in Barytsalz oder Silbersalz.

Hippursäure $C_9H_9NO_3$.

142. Hippursäure ist fast constant reichlich im frischen Harne von Pferden, Wiederkäuern, Pachydermen und anderen pflanzenfressenden Säugethieren, in geringer Menge im Harne von Menschen, auch oft bei reiner Fleischkost oder lange dauernder Inanition vorhanden, ebenso im Hundeharne. Im Harne von Schildkröten und mehreren Insectenarten ist sie gleichfalls gefunden, nie dagegen im Vogelharne. Sie tritt im Harne von Menschen, Hunden u. s. w. reichlich auf nach Einführung von Benzoësäure oder Zimmtsäure, Toluol, Bittermandelöl, Chinasäure, Phenylpropionsäure u. s. w. Nach Genuss von Beerenfrüchten findet sie sich reichlicher im Harne. Ausserdem ist Hippursäure in geringer Menge im Schweisse nach Genuss von Benzoësäure gefunden, dagegen im Rindsblut vergeblich gesucht. Die ausgeschnittenen noch lebenden Nieren vom Hunde künstlich durchblutet, liefern bei Gehalt des Blutes an Benzoësäure und Glycocoll noch Hippursäure; bei Kaninchen können auch andere Organe diese Function erfüllen.

Synthetisch wird Hippursäure erhalten durch Einwirkung von Benzoylchlorid auf Glycocollzink oder Glycocollsilber, ausserdem durch Erhitzen von Monochloressigsäure mit Benzamid.

Man stellt sie aus Pferde- oder Rinderharn dar durch Abdampfen des Harns auf kleines Volumen und Zusatz von starker Salzsäure unter gutem Umrühren nach dem Erkalten. Die sich ausscheidende krystallisirte Säure spült man mit kaltem Wasser ab, löst dann in sehr schwacher Natronlauge, erhitzt zum Sieden, fügt unterchlorigsaures

Natron in kleinen Portionen bis zur Entfärbung hinzu und scheidet nach dem Erkalten der Lösung die Säure durch Salzsäure wieder ab. Beim langsamen Erkalten der heiss gesättigten Lösung scheidet sich die Hippursäure meist in harten, zerbrechlichen, langen vierseitigen Prismen mit 2 oder 4 Pyramidenflächen am Ende ab, die dem rhombischen System zugehören. Sie lösen sich in 600 Thl. kaltem Wasser, viel reichlicher in heissem Wasser, leicht in Alkohol, wenig in Aether, gar nicht in Petroläther. Trocken erhitzt schmilzt die Hippursäure und zerfällt beim weiteren Erhitzen unter Verkohlung zu Benzonitril, Blausäure, Benzoësäure. Sie verflüchtigt sich nicht mit den Wasserdämpfen, wird beim Kochen mit Wasser nicht verändert, aber beim Kochen mit starker Salzsäure, schneller beim Kochen mit starker Alkalilauge unter Wasseraufnahme zu Glycocoll und Benzoësäure gespalten. Dieselbe Spaltung vollzieht sich beim Stehen und Faulen hippursäurehaltigen Harns oder nach Zusatz von faulenden Massen zu verdünnten wässrigen Lösungen hippursaurer Salze.

Die hippursauren Salze sind meist in Wasser löslich, besonders leicht die Alkali- und alkalischen Erdsalze. Hippursaures Silber löst sich in heissem Wasser und scheidet sich beim Erkalten in weissen, seideglänzenden Nadeln ab. Hippursaures Eisenoxyd ist ein hellbrauner Niederschlag, der in Wasser sehr schwer, in Harn leichter löslich ist. Bei gewöhnlicher Temperatur geben neutrale hippursaure Salze mit Eisenchlorid einen Niederschlag, der auf 1 Atom Eisen 2 Atome Hippursäure enthält, beim Erhitzen der Flüssigkeit wird Hippursäure daraus frei und der Niederschlag enthält dann auf 1 Atom Eisen 1 Atom Hippursäure.

Zur Auffindung der Hippursäure im Harne ist die obige Darstellungsweise nur dann geeignet, wenn er viel davon enthält. Um geringe Mengen Hippursäure aufzusuchen, verdampft man die schwach alkalisch gemachte Lösung im Wasserbade zum dicken Syrup, extrahirt mit Alkohol, entfernt dann den Alkohol durch Abdampfen, mischt mit Salzsäure und extrahirt wiederholt mit Essigäther. Die abgegossenen Essigätherlösungen wäscht man mit kleinen Mengen Wasser oder Chlornatriumlösung, verdunstet den Essigäther und erschöpft den Rückstand mit frisch destillirtem Petroläther, welcher die Benzoësäure aufnimmt, die Hippursäure ungelöst lässt*). Die Krystallform, Schmelz-

*) Methode von Bunge und Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathologie. Band 6. S. 233.

barkeit, Zersetzung unter Bildung von bittermandelölähnlich riechendem Benzonitril beim stärkern Erhitzen können zur Identificirung benutzt werden.

Phenylessigsäure $C_8 H_8 O_2$.

143. Die früher aus Vulpinsäure, aus Benzylcyanid, aus Atropasäure gewonnene und synthetisch aus Monobrombenzol und Monochloressigsäureäther dargestellte, auch Alphatoluylsäure genannte Phenylessigsäure wurde von E. und H. Salkowski*) als Product der andauernden Fäulniss von Albuminstoffen erhalten und zwar nach folgendem Verfahren: Die mit Natriumcarbonat alkalisch gemachte Flüssigkeit war 13—60 Tage der Fäulniss ausgesetzt, dann die Flüssigkeit bis auf $^1/_6$ ihres Volumens abdestillirt. Der Rückstand weiter verdunstet, dann mit Alkohol ausgezogen, das filtrirte Alkoholextract verdunstet, der Rückstand mit Aether nach starkem Ansäuern mit Schwefelsäure ausgezogen. Nach Verdunsten des Aetherauszugs wird mit Natriumcarbonat übersättigt, dann werden mit Chlorbarium die höheren fetten Säuren gefällt, die filtrirte Lösung mit Salzsäure angesäuert, mit Aether ausgeschüttelt. Der Rückstand des Aetherauszugs endlich wird in überhitztem Wasserdampf fractionirt destillirt. Bis 100° gehen Aether etc., von 100 bis 250° flüchtige fette Säuren, von 250° an Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure über.

Die Phenylessigsäure krystallisirt in breiten Blättchen, schmilzt bei 76,5° und siedet bei 262°, wird durch Chromsäure zu Benzoësäure oxydirt.

Phenylpropionsäure $C_9 H_{10} O_2$

auch Hydrozimmtsäure genannt, durch Einwirkung von Natriumamalgam auf Zimmtsäure entstehend und auf manche andere Weise dargestellt, wurde von E. u. H. Salkowski**) neben oder statt der Phenylessigsäure unter den Fäulnissproducten verschiedener Eiweissstoffe gefunden. Sie krystallisirt in langen feinen Nadeln, löst sich in heissem Wasser reichlich, beim schnellen Erkalten als Oel, aus verdünnter Lösung in Krystallen sich abscheidend, auch in kaltem Wasser nicht unlöslich, leicht in Alkohol oder Aether löslich, Schmelzpunkt 47—48°, Siedepunkt 280°. Oxydirt sich mit Chromsäure zu Benzoësäure.

---

*) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 12. S. 653.

**) a. a. O.

Phenacetursäure $C_{10}H_{11}NO_3$ ist von E. und H. Salkowski*) eine Säure genannt, die nach Einführung von Phenylessigsäure in den Darmcanal im Harne erscheint und der Hippursäure sehr ähnlich ist. Sie krystallisirt aus heissem Wasser in dünnen, dicht auf einander liegenden Blättchen, bei langsamer Abscheidung in derben, anscheinend rechtwinkeligen Prismen mit 2 Pyramidenflächen. Sie ist in Wasser schwer löslich, aber leichter als Hippursäure, leicht löslich in Alkohol, sehr schwer löslich in Aether. Sie schmilzt bei 143°. Durch Kochen mit Salzsäure wird sie in Phenylessigsäure und Glycocoll gespalten.

Ornithursäure $C_{19}H_{20}N_2O_4$ **).

144. Vögel geben nach Einbringung von Benzoësäure keine Ausscheidung von Hippursäure im Harne, sondern die von Jaffé entdeckte Ornithursäure. Die complicirte Darstellung vergl. in der Originalabhandlung.

Die Säure krystallisirt ohne Krystallwasser in sehr kleinen, farblosen Nadeln, die sehr schwer löslich in heissem Wasser und in Aether so gut wie unlöslich sind. Sie lösen sich leichter in Essigäther, am leichtesten in heissem Alkohol, beim Erkalten sich grossentheils ausscheidend. Schmelzpunkt 182° (uncorrigirt). Beim stärkeren Erhitzen tritt Bittermandelgeruch und wolliges Sublimat, ähnlich dem Leucin auf. Die Lösungen röthen Lackmus. In nicht ganz reinem Zustande abgeschieden, bildet sie zunächst milchige Trübung, dann eine pflasterartige Masse, die allmälig krystallisirt; im reinen Zustande scheidet sie sich gleich krystallinisch aus. Ihre Verbindungen mit Alkalien und alkalischen Erden sind löslich und reagiren neutral.

Am aufsteigenden Kühler mit starker Salzsäure gekocht bis Lösung erfolgt, verwandelt sie sich zunächst in Benzoësäure und Monobenzoylornithin, beim weiteren Kochen in Ornithin und Benzoësäure. $C_{19}H_{20}N_2O_4 + 2H_2O = 2(C_7H_6O_2) + C_5H_8O_2(NH_2)_2$

Ornithursaurer Baryt ist in Alkohol oder Wasser leicht löslich, in Aether unlöslich, ornithursaures Calcium, aus der Ammoniakverbindung durch Calciumchlorid ausgefällt, ist sehr schwer löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol oder Aether.

Das Monobenzoylornithin bildet farblose, zarte weiche Nadeln vom Schmelzpunkt 225—230°, ist leicht löslich in Wasser, unlöslich in Aether, fast unlöslich in Alkohol, giebt mit Mineralsäuren leicht lösliche Salze, aus concentrirter Salzlösung fällbar durch Neutralisation oder Zusatz von essigsaurem Alkali.

---

*) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 12. S. 653.

**) Jaffé, Ebendas. Bd. 10. S. 1926 Bd. 11. S. 406.

Das Ornithin $C_5H_8O_2(NH_2)_2$ ist noch wenig bekannt; sein salpetersaures Salz $C_5H_{12}N_2O_2, HNO_3$ bildet breite farblose Krystallblätter.

Paroxyphenylessigsäure $C_6H_4\left\langle\begin{matrix}OH\\C_2H_3O_2\end{matrix}\right.$

145. Paroxyphenylessigsäure ist von E. und H. Salkowski*) unter den Fäulnissproducten der Wolle und Eiweissstoffe aufgefunden, von H. Salkowski**) aus Phenylessigsäure dargestellt, von Baumann***) als Fäulnissproduct des Tyrosins erkannt und aus dem normalen Harn von Menschen und Thieren gewonnen.

Die Säure krystallisirt aus der wässrigen Lösung in prismatischen, meist flachen, sehr spröden Nadeln, schmilzt bei 148° und verflüchtigt sich beim stärkeren Erhitzen zum Theil unzersetzt. Sie ist in kaltem Wasser ziemlich leicht löslich, weniger in salzsäurehaltigem, leicht in heissem Wasser, Alkohol, Aether. Ihre wässrige Lösung giebt mit Eisenchlorid zunächst wenig intensive, grauviolette, dann schmutzig graugrüne Färbung. Kupfersulfat, Zink- oder Cadmiumsulfat geben in den wässrigen Lösungen der Ammoniakverbindung der Säure Niederschläge, ebenso Silbernitrat einen in kochendem Wasser löslichen, voluminösen Niederschlag des neutralen Silbersalzes. Durch Bleiacetat werden sehr verdünnte neutrale Lösungen nicht gefällt, concentrirte Lösungen geben krystallinischen, im Ueberschuss des Fällungsmittels löslichen Niederschlag; er scheidet sich dann allmälig wieder aus. Das Kalksalz durch Kochen der Säure mit Calciumcarbonat erhalten, krystallisirt aus concentrirter Lösung in tafelförmigen Krystallen $(C_8H_7O_3)_2Ca + 4(H_2O)$.

Hinsichtlich der Darstellung der Säure aus dem Harn vergl. folgenden Paragraphen.

Hydroparacumarsäure $C_6H_4\left\langle\begin{matrix}OH\\C_3H_5O_2\end{matrix}\right.$

146. Die Hydroparacumarsäure, früher aus der Paracumarsäure durch Natriumamalgam und aus der Paramidohydrozimmtsäure durch salpetrige Säure dargestellt, wurde von Baumann†) als nächstes Reductionsproduct des Tyrosin bei der Fäulniss und Bestand-

---

*) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 12. S. 648.

**) Ebendas Bd. 12. S. 1438.

***) Ebendas. Bd. 12. S. 1450.

†) Ebendas. Bd. 12. S. 1450 u. Bd. 13. S. 279.

theil des menschlichen Harns erkannt; sie findet sich unter den Fäulnissproducten der Eiweissstoffe neben der Paroxyphenylessigsäure in verschiedenen Quantitäten, da sie selbst durch Fäulniss bei Luftzutritt weiter zerfällt.

Durch Abdampfen gewonnen, bildet sie ein Oel, welches bald zur strahligen Krystallmasse erstarrt, aus wenig Wasser umkrystallisirt giebt sie farblose, wasserfreie, monoklinische, in Wasser, Alkohol, Aether leicht lösliche, bei 125° schmelzende Krystalle. Aus verdünnter wässriger Lösung wird die Säure durch neutrales Bleiacetat nicht ausgefällt, wohl aber durch basisches Bleiacetat. In Wasser ist die Hydroparacumarsäure etwas leichter löslich, als die Paroxyphenylessigsäure. In Benzol sind beide schwer löslich, aber gleichfalls die Paroxyphenylessigsäure schwieriger, als die Hydroparacumarsäure. Beide Säuren geben die Plugge'sche Reaction der Rothfärbung bei Einwirkung von Millons Reagens in der Wärme*).

Baumann**) empfiehlt folgendes Verfahren zur Gewinnung der Paroxphenylessigsäure und der Hydroparacumarsäure: circa 50 Liter frischer normaler, menschlicher Harn werden zum dünnen Syrup verdunstet, mit Essigsäure stark angesäuert und mit Aether extrahirt. Die Aetherauszüge werden mit überschüssiger Sodalösung wiederholt geschüttelt; die vereinigten wässrigen alkalischen Lösungen werden von Neuem angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Der Aetherauszug wird, nachdem der Aether abdestillirt ist, auf dem Wasserbade erwärmt bis die Essigsäure zum grössten Theile verjagt ist, in wenig Wasser gelöst und mit neutralem Bleiacetat versetzt, so lange ein Niederschlag entsteht. Aus dem Filtrat dieses Niederschlags werden durch basisches Bleiacetat die Oxysäuren gefällt; der ausgewaschene und abgepresste Niederschlag wird in Wasser zertheilt, mit SH_2 zerlegt und die Lösung von Neuem mit Aether ausgezogen. Nach dem Verdunsten des Aethers dieser Auszüge hinterbleibt ein stark saurer gelber Syrup, der meist nach einiger Zeit krystallinisch erstarrt. Tritt auch nach längerem Stehen keine Krystallisation ein, so ist es zweckmässig, den Syrup in Wasser zu lösen, mit kohlensaurem Baryt zu kochen und aus der Lösung der Barytsalze die Säuren von Neuem abzuscheiden. Die aus dem Menschenharn auf

---

*) Zeitschr. f. anal. Chem. 1872. S. 173. Nasse, Sitzungsber. d. naturf. Gesellsch. zu Halle 8. März 1879.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 191.

diese Weise dargestellten Oxysäuren erstarren stets nach einigen Tagen krystallinisch; viel langsamer und schwieriger erfolgt die Krystallisation der Oxysäuren aus dem Hunde- und Pferdeharn. Die zum Krystallbrei erstarrte Masse wird zwischen Papier möglichst abgepresst und aus wenig Wasser umkrystallisirt. Die Paroxyphenylessigsäure krystallisirt dabei in langen durchsichtigen Prismen und wird durch einmaliges Umkrystallisiren aus viel Benzol völlig rein erhalten. Aus der eingedampften Mutterlauge wird durch Kochen mit einer zur völligen Lösung unzureichenden Menge Benzol die Hydroparacumarsäure aufgenommen, welche beim Erkalten noch gemengt mit Paroxyphenylessigsäure krystallisirt. Eine Methode der Trennung beider Säuren ist bis jetzt nicht bekannt.

Oxymandelsäure $C_8H_8O_4$.

147. Von Schultzen und Ries*) wurde in mehren Fällen von acuter Leberatrophie im Harne neben Tyrosin eine Säure durch Ansäuern und Ausschütteln mit Aether in diesem gelöst erhalten, die durch basisches, nicht neutrales Bleiacetat fällbar, in Wasser schwerer löslich als Paroxyphenylessigsäure und Hydroparacumarsäure, einen Schmelzpunkt 162° und die obige Zusammensetzung ergab und Oxymandelsäure genannt ist. Baumann**) erhielt aus Harn von Phosphorvergiftung eine in Benzol unlösliche Säure mit den aromatischen Oxysäuren zusammen, deren Trennung durch diese Unlöslichkeit leicht gelingt. Ihre Lösung färbte sich intensiv roth mit Millon's Reagens, sie bildete nadelförmige Krystalle von 167—168° Schmelzpunkt, welche bei raschem Erhitzen sich unter Abspaltung von Phenol zersetzten.

Blendermann***) gewann bei Fütterung von Kaninchen mit Tyrosin aus dem Aetherextract nach Abdampfen und Ansäuern des Harns neben den Oxysäuren eine als Tyrosinhydantoin bezeichnete Substanz (vergl. unten S. 220) und eine Säure, die in halbzolllangen seidenglänzenden Nadeln mit Krystallwasser sich ausschied, sich schwer in Wasser löste und unter Braunfärbung bei 162—164° schmolz. Ihre Zusammensetzung ergab sich nach einer Analyse zu $C_9H_{10}O_4 + \frac{1}{2}H_2O$. Ueber

*) Schultzen und Ries, Ueber acute Phosphorvergiftung und Leberatrophie. Berlin 1869.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 192.

***) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 256.

Schwefelsäure verwittern die Krystalle und bei 105—110° verlieren sie das ganze Krystallwasser. Diese Säure giebt Rothfärbung mit Millon's Reagens, mit Eisenchlorid keine Färbung, mit Bromwasser Trübung und geballten amorphen Niederschlag. Man darf sie wohl als Oxyhydroparacumarsäure bezeichnen; sie stimmt mit den Angaben von Schultzen und Ries über die Oxymandelsäure überein, bis auf die Zusammensetzung, welche CH_2 mehr ergeben hat.

Tyrosin $C_9H_{11}NO_3$.

148. Das Tyrosin nach der synthetischen Darstellung von Erlenmeyer und Lipp*) identisch mit Paraphenyloxyalphaamidopropionsäure ist als constantes Product der Spaltung von Eiweissstoffen und Hornsubstanzen, nicht vom Leim, bei Einwirkung von Pankreasflüssigkeit, Fäulniss, Kochen mit Säuren oder Alkalien bekannt. Im normalen menschlichen oder Thierkörper fehlt das Tyrosin sowohl im Blute als den Organen, endlich im Harne, Speichel und andern Secreten, findet sich nur im Dünn- und Dickdarme bei der Verdauung von Eiweissstoffen, im Harne bei vorgeschrittener Phosphorvergiftung von Menschen, nie bei Hunden, ist aber in der Leber bei dieser Vergiftung oft gefunden. Bei acuter Leberatrophie reichlich im Harne. Fast immer ist Leucin sein Begleiter. Seine Darstellung geschieht am Besten nach der von Hlasiwetz und Habermann angegebenen Methode (vergl. oben bei Leucin § 116).

Das gereinigte Tyrosin bildet farblose seidenglänzende feine mikroskopische Nadeln ohne Geruch und Geschmack, die sich beim Erhitzen unter Geruch nach verbranntem Horn zersetzen. Es ist schwer löslich in kaltem, leichter löslich in heissem Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol oder Aether. In Ammoniak, Alkalilauge, auch in kohlensauren Alkalilösungen löst es sich leicht, ebenso in verdünnten Mineralsäuren, schwer in Essigsäure. Tyrosin zeigt linksseitige Circularpolarisation in salzsaurer Lösung $(\alpha)_D = -7{,}98^0$, in Aetzkalilösung dagegen $(\alpha)_D = -8{,}9^0$ bis -9^0**). Wird Tyrosin in ziemlich starker Salpetersäure gelöst, so scheidet sich nach einiger Zeit aus der Lösung ein gelbes Krystallpulver von salpetersaurem Nitrotyrosin aus. Mit concentrirter Schwefelsäure färbt sich Tyrosin vorübergehend roth, löst sich und bildet beim Stehen und Erwärmen Tyrosinsulfosäure, welche in

*) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 15. S. 1544.

**) Mauthner, Wien. Acad. Sitzungsber. Bd. 85. II. April 1882.

Wasser gelöst, mit Calcium- oder Bariumcarbonat gesättigt und filtrirt beim Zusatz von Eisenchlorid eine violette Färbung giebt (Reaction von Piria). Lösung von Tyrosin mit Millon's Reagens erhitzt zeigt bald Rothfärbung, nach einiger Zeit bildet sich ein rother Niederschlag. Beim Schmelzen mit Kalihydrat giebt es Paroxybenzoesäure. Bei der Fäulniss wird es zunächst zu Hydroparacumarsäure, dann zu Paroxyphenylessigsäure, dann zu Parakresol und CO_2 verwandelt, bei Zutritt von Sauerstoff bilden sich neben Parakresol wechselnde Mengen von Phenol. Dieselbe Umwandlung erleidet das Tyrosin, welches aus Eiweissstoffen bei ihrer Fäulniss im Darme entsteht, und besonders reichlich finden sich diese Umwandlungsproducte, wenn Tyrosin selbst in den Darm von Thieren eingeführt wird*).

Zum Nachweise von Tyrosin im Harn oder anderen Flüssigkeiten wird nach Abscheidung der etwa vorhandenen Eiweissstoffe mit Essigsäure angesäuert, zum Kochen erhitzt und filtrirt, dann zuerst mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetat gefällt, so lange Niederschlag entsteht, filtrirt, durch SH_2 das Blei aus dem Filtrate entfernt und die filtrirte Flüssigkeit zum Syrup eingedampft. Beim Stehen scheidet sich Tyrosin allmälig krystallinisch ab, wenn es reichlich vorhanden ist. Giebt der Syrup mit Millon's Reagens beim Erwärmen keine Rothfärbung, so ist Tyrosin nicht vorhanden, tritt dagegen diese Reaction ein, so kann sie durch Reste nicht gefällter Oxysäuren oder Phenol- und Kresolschwefelsäuren bedingt sein. Für diesen Fall fügt man reichlich Salzsäure hinzu, verdünnt mit Wasser und erhält $1/2$ Stunde im Sieden zur Entfernung von Phenol und Kresol, lässt erkalten und extrahirt mehrmals mit Aether zur Entfernung der Oxysäuren, wiederholt dann mit der rückständigen wässerigen Lösung die Millon'sche Reaction. Bleibt jetzt diese Reaction aus, so ist kein Tyrosin vorhanden, tritt sie aber ein, so kann sie von Tyrosin herrühren, aber beweisend ist dies nicht. Man kann dann mit Bleioxydhydrat das Chlor entfernen, mit SH_2 aus dem Filtrat das gelöste Blei abscheiden, filtriren und zur Krystallisation eindampfen, sich abscheidende Krystallnadeln und Körner mit concentrirter Schwefelsäure erwärmen, nach $1/4$ Stunde in Wasser lösen,

*) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. S 60. Bd. 3. S. 250. Bd. 4. S. 304. Baumann und Herter, ebendas. Bd. 1. S 244. Weyl, ebendas. Bd. 3. S. 312. Brieger, ebendas. Bd. 3. S. 134. Baumann u. Brieger, ebendas. Bd. 3. S. 149. Blendermann, ebendas. Bd. 6. S. 234. Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 12. S. 1450.

mit Bariumcarbonat neutralisiren, zum Kochen erhitzen, filtriren und mit wenigen Tropfen Eisenchlorid nach Piria prüfen. Gelingt die Krystallabscheidung nicht, so ist die Anwesenheit von Tyrosin noch nicht sicher zu stellen. Blendermann hat gefunden, dass selbst 0,2 Grm. Tyrosin zu 600 CC. Harn gefügt nicht wieder abzuscheiden waren, während 0,5 Grm. in ½ bis 1 Liter Harn gelöst zum geringeren Theil in ausgebildeten Krystallen erhalten wurde. Versuche, durch Fäulniss in dem Syrup enthaltenes Tyrosin in Kresol und Phenol und Oxysäuren umzuwandeln und als solche nachzuweisen, gaben kein Resultat. Baumann sah die in der angegebenen Weise dargestellten Syrupe aus normalem Harn mit Millon's Reagens stets Rothfärbung geben; es ist nicht bekannt, welcher Stoff hier diese Reaction veranlasst.

Ein Hydantoin des Tyrosin $C_6H_4\langle{}^{OH}_{C_4H_5N_2O_2}$ stellte Blendermann*) aus dem Harne von Kaninchen dar, denen reichliche Quantitäten von Tyrosin beigebracht waren. Dasselbe ging mit den Oxysäuren in den Aetherauszug über, krystallisirt leicht aus, ist schwer löslich in Wasser, Alkohol, Aether, etwas leichter in heissem Wasser, noch leichter in Ammoniak. Aus ammoniakalischer Lösung wird es durch Salzsäure als weisses krystallinisches Pulver gefällt. Die Krystalle bräunen sich bei 270°, schmelzen unter Zersetzung bei 275—280°, geben starke Rothfärbung mit Millon's Reagens und zersetzen sich mit Barytwasser im zugeschmolzenen Rohr zu CO_2, NH_3 und Tyrosin.

Ein Derivat des Tyrosin von der Zusammensetzung $C_{21}H_{26}N_2O_8$ wurde von Danilewski**) durch Einwirkung von sehr wenig Pankreasferment auf Eiweissstoffe bei gewöhnlicher Temperatur und ziemlich neutraler Reaction innerhalb 2—5 Tagen, noch ehe Indol nachgewiesen werden konnte, erhalten. Nach dem Eindampfen der filtrirten Flüssigkeit und Zusatz von Alkohol schied sich dasselbe in Körnern und Krusten aus. Es wurde mit 30procentigem Alkohol gewaschen, aus heissem verdünnten Alkohol oder heissem Wasser umkrystallisirt; es bildet kreidige Massen, die aus mikroskopischen Prismen oder tyrosinähnlichen Nadeln bestehen, giebt die Farbenreactionen des Tyrosin, soll aber ausserdem die Scherer'sche Inositreaction geben.

Gallussäure $C_6H_2(OH)_3CO_2H$.

149. Ohne Zweifel aus Gerbsäure in der Nahrung herstammend, ist Gallussäure im Menschen- und Pferdeharn mehrmals aufgefunden.

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 253.

**) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 13. S. 2132.

Aus dem mit Essigsäure angesäuerten Harne wird sie mit den Oxysäuren zusammen von Aether aufgenommen und aus der sauren wässerigen Lösung des Aetherauszugrückstandes durch neutrales Bleiacetat gefällt. Aus diesem Niederschlage kann sie durch Säure und Schütteln mit Aether in diesen wieder aufgenommen und nach Verdunsten des Aetherauszuges in Wasser aufgelöst werden. Sie scheidet sich beim Verdunsten der wässerigen Lösung zuweilen in geringer Menge in Krystallen ab. Sie giebt in wässeriger Lösung mit Eisenoxydsalzen schwarzblaue Färbung, reducirt alkalische Silberlösung schon bei gewöhnlicher Temperatur und bräunt sich auf Zusatz von Alkalilauge.

Kynurensäure $C_{10}H_9NO_3$.

150. Kynurensäure wurde zuerst von Liebig im Hundeharne gefunden. Sie tritt hier in geringer Quantität und nicht constant, bald neben Harnsäure, bald ohne diese auf. Man fällt sie aus dem Harne entweder durch Salzsäure (4 CC. starker Salzsäure für je 100 CC. Harn) und sammelt die meist in kleinen Krystallen neben Schwefel ausgeschiedene Säure nach 48 Stunden Stehen, oder man dampft erst auf kleines Volumen ein und fällt dann mit Salzsäure. Am Besten fällt man den Harn nach Hofmeister*) mit Phosphorwolframsäure (welche noch bei $^1/_{16000}$ Gehalt des Harnes an Kynurensäure Fällung giebt) unter Zusatz von $^1/_{10}$ vom Volumen des Harnes an Salzsäure und Auswaschen des Niederschlages bis zum Verschwinden der Chlorreaction mit verdünnter Schwefelsäure (5 Vol. Schwefelsäure auf 100 Vol. Wasser). Der abfiltrirte und abgepresste Niederschlag wird mit Barytwasser zum dünnen Brei angerührt, zum Kochen erhitzt, noch fester Aetzbaryt bis zur stark alkalischen Reaction eingetragen, dann filtrirt und gewaschen, der überschüssige Baryt mit CO_2 ausgefällt, dann auf kleines Volumen abgedampft und noch warm mit Salzsäure bis zur stark sauren Reaction versetzt, filtrirt, gewaschen, dann noch einige Male mit Aetzbaryt in das schwer lösliche Barytsalz verwandelt, mit Thierkohle entfärbt und wieder mit Säure abgeschieden.

Die reine Säure bildet glänzende weisse Nadeln, welche 2 Mol. Krystallwasser erst bei 150° verlieren. Sie löst sich nicht in verdünnten, aber wohl in concentrirten Mineralsäuren, löst sich ein

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 67.

Wenig in Aether, ziemlich gut in heissem Alkohol, beim Erkalten sich wieder ausscheidend. In Barytwasser gelöst giebt sie nach Ausfällung des überschüssigen Baryt mit CO_2, Auskochen des Niederschlages mit Wasser, Eindampfen und Stehenlassen zur Krystallisation in farblosen dreieckigen Blättchen krystallisirende Barytverbindung $(C_{10}H_7NO_3)_2Ba + 3(H_2O)$.

Erhitzt man trockene Kynurensäure auf 265°, so bildet sich unter Entweichen von CO_2 eine braune Flüssigkeit, die nach dem Erkalten mit Wasser behandelt beim Stehen schöne Krystalle einer Base liefert, die bei 201° schmelzen; bei höherer Temperatur ist diese Base, von Schultzen und Schmiedeberg*) Kynurin genannt C_9H_7NO. nicht flüchtig. Sie löst sich in Alkohol und giebt mit Platinchlorid gut krystallisirendes Doppelsalz.

Mit Chlorwasserstoff giebt die Kynurensäure eine Verbindung $C_{10}H_8NO_3, HCl$, die durch Wasser zerlegt wird. Bei Behandlung mit Bromwasser spaltet sich CO_2 ab, und es entsteht ein Niederschlag, der durch Behandlung mit Alkohol rein und krystallinisch wird, Tribomkynurin $C_9H_4Br_3NO$**). Mit Zinkstaub im Wasserstoffstrom erhitzt giebt Kynurensäure fast reines Chinolin C_9H_7N***).

Urocaninsäure $C_{12}H_{12}N_4O_4$.

151. Als regelmässigen Bestandtheil im Harne eines Hundes in beträchtlichen Quantitäten fand Jaffé†) die Urocaninsäure, die in einigen Beziehungen sich der Kynurensäure eng anschliesst, sich wie eine Base und wie eine Säure verhält, gut krystallisirende Verbindungen giebt, besonders ein schwer lösliches salpetersaures Salz, sich aber später im Harne anderer Hunde nicht wiedergefunden hat. Sie krystallisirt im freien Zustande mit 4 Mol. H_2O, zersetzt sich bei 212—213°, indem sie schmilzt, stürmisch CO_2 und etwas Wasser entwickelt und ein gelbbraunes Oel zurücklässt, das beim Erkalten zu einer glasigen, durchscheinenden, grünlich fluorescirenden Masse erstarrt, die sich in Alkohol leicht, schwer in kaltem Wasser, leichter in heissem Wasser löst. Diese letztere noch nicht krystallisirt erhaltene Substanz, von Jaffé Urocanin $C_{11}H_{10}N_4O$ genannt, ist eine

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 164. S. 155.

**) Brieger, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 89.

***) Kretschy, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 12. S. 1673.

†) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 8. S. 811.

stark alkalisch reagirende Base, welche mit Platinchlorid ein Doppelsalz von der Zusammensetzung $C_{11}H_{10}N_4O, 2HCl . PtCl_4$ gab. Die Urocaninsäure zerlegt sich also beim Erhitzen in CO_2, Wasser und Urocanin $C_{12}H_{12}N_4O_4 = CO_2 + H_2O + C_{11}H_{10}N_4O$.

Cholesterin $C_{25}H_{42}O$*).

152. In geringer Menge findet sich das Cholesterin gelöst im Blute und fast allen anderen Flüssigkeiten des menschlichen Körpers und zeigt ebenso bei Thieren sehr weite Verbreitung. Wie es der Name dieses Stoffes ausdrückt, ist es zuerst in der Galle gefunden und zwar in der Galle eines jeden Thieres, bei welchem darauf untersucht ist. Bei Weitem die meisten Gallensteine bestehen der Hauptmasse nach, ein Theil derselben sogar ganz aus krystallisirtem Cholesterin und es findet sich dieser Körper krystallinisch abgeschieden in vielen alten Transsudaten und Cystenflüssigkeiten, besonders in Hydrocele, Ovarialcysten, Atherombälgen der Haut, den sog. atheromatösen Arteriengeschwüren, Eiter, Tuberkelmassen, Strumacysteninhalt. Reichlich ist es auch in der Marksubstanz des Gehirns und aller Nerven enthalten. Im Harne ist es höchst selten und in sehr geringer Menge gefunden, dagegen ist es ein normaler Bestandtheil der Fäces von Menschen und Thieren.

Man stellt das Cholesterin fast ausschliesslich aus Gallensteinen dar, welche man gepulvert mit siedendem Alkohol oder Alkohol und Aether auszieht; das aus der Lösung beim Erkalten oder Verdunsten des Aethers krystallinisch abgeschiedene Cholesterin wird noch zur Reinigung mit alkoholischer Kalilösung gekocht, durch Erkaltenlassen wieder abgeschieden, mit kaltem Alkohol und mit Wasser gewaschen, endlich in Alkohol und Aether gelöst und die Lösung zur Krystallisation offen hingestellt.

Das reine Cholesterin krystallisirt aus der Lösung in wasserfreiem Aether, Chloroform oder Benzol in wasserfreien, feinen seidenglänzenden Nadeln, aus kochendem Alkohol beim Erkalten in wasserhaltigen grossen rhombischen Tafeln, die besonders aus einer Mischung von Alkohol und Aether beim Verdunsten des letzteren sehr gross und schön werden. In trockner Luft werden diese Krystalle durch Verwittern schnell undurchsichtig; ihre Zusammensetzung ist $C_{25}H_{42}O + H_2O$.

---

*) Hesse, Liebig's Ann. Bd. 192. S. 175.

Diese rhombischen Tafeln haben entweder 76° 30′ oder 87° 30′ als spitze Kantenwinkel. Während der Krystallisation zeigt sich oft Abrundung des stumpfen und Zuspitzung des spitzen Winkels, ja zuerst scheinen oft nur Nadeln zu entstehen, dann ungleichseitige Wetzsteinformen und diese gehen endlich in die obigen rhombischen Tafeln über. Die Krystalle sind oft so dünn, dass ihre Contouren nur bei sehr engem Diaphragma unter dem Mikroskope sichtbar werden.

Das trockne Cholesterin schmilzt bei 145° und destillirt im luftleeren Raume bei 360°. Es ist völlig unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren und selbst concentrirten Alkalilaugen; auch in kaltem Alkohol ist es nicht löslich, dagegen löst es sich reichlich in siedendem Alkohol, in Aether, Chloroform, Benzol, flüchtigen und fetten Oelen, weniger löslich ist es in den Lösungen gallensaurer (cholalsaurer, glyco- und taurocholsaurer) Salze, am wenigsten in den wässerigen Lösungen der Seifen. Die Lösungen des Cholesterins drehen die Polarisationsebene nach links und zwar ist die spec. Drehung in Aether gelöst nach Lindenmeyer $(\alpha)_D = -31{,}59$, nach Hesse*) $(\alpha)_D = -31{,}12$, in Chloroform gelöst mit der Concentration zunehmend $(\alpha)_D = -37{,}02$ bis $-38{,}63^0$.

Kochen mit Aetzkalilauge lässt es unverändert, aber beim Schmelzen mit Kalihydrat wird es zerlegt. Concentrirte Salpetersäure bildet daraus zunächst Cholesterinsäure. In concentrirter Schwefelsäure wird es zu einer schön rothen Masse umgewandelt, die beim Zusatz von Wasser grün und gelb wird; es bilden sich durch die Einwirkung der concentrirten Schwefelsäure unter Abgabe von Wasser mehrere isomere Kohlenwasserstoffe (Cholesteriline), ebenso wirkt glasige Phosphorsäure (Bildung der Cholesterone). Mit chromsaurem Kali und Schwefelsäure erhitzt giebt Cholesterin eine Säure von der Zusammensetzung $C_{24}H_{40}O_6$, die nicht krystallisirt und aus ammoniakalischer Lösung mit Chlorcalcium, Chlorbarium, salpetersaurem Silber voluminöse Niederschläge giebt von der Formel $C_{24}H_{38}R_2O_6$**). Durch concentrirte Schwefelsäure und ein wenig Jod wird krystallisirtes Cholesterin bald violett, blau, grün und roth gefärbt. Dieses Verhalten bietet ein gutes mikroskopisches Erkennungsmittel für Cholesterinkrystalle.

Uebergiesst man Cholesterinkrystalle mit concentrirter Schwefel-

---

*) Liebig's Ann. Bd. 192. S. 178.

**) Loebisch, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1872. S. 510.

säure, zerreibt damit und fügt Chloroform hinzu, so erhält man eine blutroth bis violett gefärbte Lösung, die an der Luft bald wieder farblos wird, indem das Roth in Violett, Blau, Grün übergeht. Rauchende Salpetersäure bewirkt dieses Farbenspiel fast momentan. Löst man eine Probe Cholesterin in etwas Chloroform im Probirglas und fügt ein dem Chloroformvolumen gleiches Volumen concentrirter Schwefelsäure hinzu, so färbt sich die Chloroformlösung schnell blutroth, dann kirschroth und purpurfarbig. Giesst man die Lösung in eine Schale aus, so färbt sie sich bald blau, grün, endlich gelb. Die Schwefelsäure unter der Chloroformlösung zeigt eine deutlich grüne Fluorescenz, verdünnt man sie mit Eisessig, so wird die Lösung erst rosa- bis purpurroth und behält die grüne Fluorescenz*).

Dampft man auf einer Porzellanplatte (Tiegeldeckel) über freier Flamme eine sehr kleine Probe Cholesterin mit einem Tropfen concentrirter Salpetersäure ab, so erhält man einen gelben Fleck, der noch warm mit Ammoniak übergossen schön roth wird. Diese Probe gelingt gut, wenn man vorsichtig und nicht zu stark erhitzt.

Eine Probe Cholesterin mit einer eisenchloridhaltigen Salzsäure auf einem Porzellantiegeldeckel über freier Flamme verdunstet, giebt eine erst röthliche, dann violette, mehr und mehr ins Bläuliche ziehende Färbung der ungelöst bleibenden Partikelchen. Diese Probe ist nur zu gebrauchen, wenn das Cholesterin bereits ziemlich rein ist, da man sonst keine deutliche Färbung in der angegebenen Weise erhält.

Das Cholesterin mit organischen Säuren andauernd erhitzt, verbindet sich damit zu Aetherverbindungen, die schwer wieder zu trennen sind. In Eisessig löst es sich beim Erwärmen sehr reichlich und scheidet sich beim Erkalten in nadelförmigen Krystallen aus, die aus Cholesterin und Essigsäure $C_{25}H_{42}O$, $C_2H_4O_2$ bestehen. Durch Zusatz von Alkohol oder Wasser erhält man aus diesen Krystallen wieder Essigsäure, und Cholesterin scheidet sich in den rhombischen Tafeln aus.

Durch Schütteln mit Aether lässt sich das Cholesterin festen Stoffen, die fein pulverisirt sind, sowie Flüssigkeiten gut entziehen. Nach Abgiessen und Verdunsten des Aethers kocht man den Rückstand mit alkoholischer Kalilauge, entfernt dann den grössten Theil des Alkohol durch Verdunsten, bringt die mit Wasser versetzte rück-

*) Salkowski, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 6. S. 207.

ständige Flüssigkeit in eine Flasche, schüttelt wieder mit Aether, welcher nach dem Abgiessen und Verdunsten das Cholesterin noch mit ein wenig Seife verunreinigt zurücklässt. Man spült es zur Reinigung mit etwas kaltem verdünnten Alkohol ab und krystallisirt es aus heissem Alkohol um, aus dem es sich in glänzenden Tafeln beim Erkalten ausscheidet. Zur Erkennung der Cholesterintafeln unter dem Mikroskop dienen die Löslichkeitsverhältnisse und das Verhalten gegen Schwefelsäure und Jod.

Isocholesterin $C_{26}H_{44}O$.

153. Neben gewöhnlichem Cholesterin wurde von E. Schultze*) im Wollfett der Schafe Isocholesterin als ein wohl charakterisirter vom Cholesterin verschiedener Körper entdeckt und untersucht. Das Isocholesterin ist darin zum Theil in Aetherverbindung mit Stearinsäure und Oelsäure vorhanden, wird im freien Zustande aus Aether und Aceton in feinen durchsichtigen Nadeln krystallisirt, aus heissem Alkohol beim Erkalten in gallertigen Massen und wenn die Lösung verdünnt ist, in weissen Flocken abgeschieden. Eine concentrirte heisse Alkohollösung erstarrt beim Erkalten zur durchscheinenden Gallert. Schmelzpunkt 138—138,5°. Das Isocholesterin besitzt rechtsseitige Circumpolarisation $(\alpha)_D = +59{,}1^0$. Es giebt mit Chloroform und concentrirter Schwefelsäure nicht die Farbenreactionen des gewöhnlichen Cholesterins.

Zur Trennung des Cholesterins und Isocholesterins wird die Mischung mit Benzoesäure im zugeschmolzenen Rohre auf 200° erhitzt und längere Zeit erhalten. Die entstandenen Benzoesäureverbindungen sind sehr verschieden. Der benzoesaure Cholesterinäther schmilzt bei 125—130° und bildet glänzende dicke, tafelförmige Krystalle, der benzoesaure Isocholesterinäther schmilzt bei 190—191° und krystallisirt in feinen glänzenden Nadeln. Durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge wird die Benzoesäure abgetrennt.

In Pflanzen sind noch drei andere Cholesterine unterschieden, nämlich Phytosterin**), Schmelzpunkt 132—133° und spec. Drehung $(\alpha)_D = -34{,}2^0$, Paracholesterin***), Schmelzpunkt 134—134,5°

---

*) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 6. S. 251. Schultze u. Barbieri, Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd 25. S. 159.

**) Hesse, Liebig's Ann. Bd. 192. S. 177.

***) Reinke und Rodewald, Ebendas Bd. 207. S. 232.

$(\alpha)_D = -27{,}24$ bis $-28{,}88^0$ und Caulosterin*), Schmelzpunkt $158-159^0$ $(\alpha)_D = -36{,}4^0$. Ob den Cholesterinen die Zusammensetzung $C_{25}H_{42}O$ oder $C_{26}H_{44}O$ zukommt, ist noch nicht genügend festgestellt.

Cholalsäure $C_{24}H_{40}O_5$.

154. Spuren von Cholalsäure finden sich im Inhalte des Dünndarmes, reichlicher im Dickdarminhalte und den Excrementen von Rindern und Hunden, wohl auch von Menschen (vergl. unten). Im icterischen Harne sind oft geringe Mengen davon nachweisbar. Sie wird aus Glycocholsäure und Taurocholsäure durch Einwirkung von Säuren oder Alkalien im Sieden oder durch Fäulniss der jene Säuren an Alkali gebunden enthaltenden Galle gebildet. Man stellt sie dar durch Kochen der Galle mit starker Kalilauge oder heiss gesättigtem Barytwasser 12—24 Stunden lang, Ausfällen durch Salzsäure und Stehenlassen für einige Tage. Durch Zusatz von Aether wird sie leichter krystallinisch. Man giesst dann den Aether ab, presst die Masse aus, löst in heissem Alkohol, fügt etwas Wasser hinzu, so dass kaum eine Trübung entsteht, und lässt erkalten; sie scheidet sich dann allmälig in tetraedrischen Krystallen ab.

Die Cholalsäure ist in amorphem und in krystallisirtem Zustande bekannt; sie krystallisirt aus der Lösung der amorphen Säure in Aether in vierseitigen Säulen mit 2 Pyramidenflächen am Ende jederseits, aus der heissen alkoholischen Lösung in tetragonalen Octaedern, meist Tetraedern, welche $2^1/_2$ Mol. Krystallwasser enthalten aus. Die Krystalle sind luftbeständig, wenn auch die aus verdünntem Alkohol erhaltenen bald trübe und undurchsichtig werden; sie sind farblos, unlöslich in Wasser, ziemlich leicht löslich in Alkohol, sehr schwer in Aether. Die amorphe Säure ist wachsartig, lässt sich kneten, ist etwas löslich in Wasser, ziemlich leicht in Aether, in jedem Verhältnisse fast in Alkohol. Die Lösung in starkem Alkohol setzt bald Krusten von kleinen Prismen ab, welche die krystallisirte wasserfreie Säure darstellen. Die Cholalsäure löst sich leicht in Alkalilaugen und treibt beim Erhitzen mit kohlensaurem Natron in wässeriger Lösung die Kohlensäure aus. Die Alkalisalze lösen sich in jedem Verhältnisse im Wasser, werden aber durch Aetzalkalien oder kohlensaure Alkalien ölartig, beim Erkalten krystallinisch erstarrend abgeschieden. In Alkohol sind die Alkalisalze nicht so leicht löslich

*) Schultze und Barbieri, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd 25. S. 159.

und krystallisiren beim Abdampfen der Lösung aus. Das Barytsalz krystallisirt in feinen seidenglänzenden, oft radial gestellten Nadeln, es löst sich schwer in kaltem Wasser, leichter in heissem, sehr leicht in Alkohol. Cholalsaures Bleioxyd und cholalsaures Silberoxyd sind unlöslich in Wasser, löslich in heissem Alkohol.

Durch Kochen mit Säuren oder Erhitzen auf 190—200° zerfällt die Cholalsäure in Wasser und Dyslysin $C_{24}H_{36}O_3$. Dyslysin ist unlöslich in Wasser, Alkohol, sehr wenig löslich in Aether, aber löslich in Cholalsäure oder cholalsauren Salzen; durch Kochen mit alkoholischer Kalilösung wird es wieder in Cholalsäure übergeführt.

Die Cholalsäure sowie ihre Salze zeigen rechtsseitige Circumpolarisation. Die spec. Drehung der wasserfreien krystallisirten Säure beträgt $(\alpha)_D = + 50^0$, die der $2^1/_2H_2O$ als Krystallwasser enthaltenden dagegen $+ 35^0$, die spec. Drehung der Alkalisalze ist nur in der alkoholischen Lösung unabhängig von der Concentration der Lösung und ist stets geringer als die der Säure. In der alkoholischen Lösung des Natronsalzes beträgt die spec. Drehung der Cholalsäure ($C_{24}H_{40}O_5$) nur $+ 31,4^0$.

Erhitzt man trockene Cholalsäure, so entwickeln sich nicht unangenehm aromatisch riechende Destillationsproducte.

Die Anthropocholalsäure, $C_{18}H_{28}O_4 + 2H_2O$, ist von Bayer*) aus der gesammelten Galle menschlicher Leichen erhalten durch Behandlung der mittelst Aether aus concentrirter Alkohollösung gefällten glyco- und taurocholsauren Salze mit gesättigter Aetzbarytlösung im Sieden 24 Stunden lang, Fällen mit Salzsäure, Auswaschen mit Wasser und Behandlung mit Petroläther. Die Anthropocholalsäure krystallisirt, wenn die concentrirte Aetherlösung mit Petroläther gefällt und stehen gelassen wird. Die Krystalle verlieren ihr Krystallwasser bei 130°. Ihr Silbersalz wurde nur amorph erhalten, die Barium- und Kaliumverbindung krystallisirten. Das Bariumsalz ist wenig löslich in kaltem, leichter in heissem Wasser. Die freie Säure ist kaum löslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, weniger in Aether, Chloroform. Sie giebt schöne Pettenkofer'sche Reaction. Ihre spec. Drehung beträgt $(\alpha)_D = + 50,3^0$. Auf 185° erhitzt, verliert sie 1 Mol. Wasser und geht in Anthropodyslysin $C_{18}H_{26}O_3$ über.

Wie dieser Befund in der menschlichen Leichengalle zu vereinigen ist mit dem von Jacobsen**) nachgewiesenem Auftreten gewöhnlicher Cholalsäureverbindungen in der Galle aus Gallenfisteln lebender Menschen, müssen weitere Untersuchungen erklären. Hammarsten***) schloss bereits aus dem Verhalten des glycocholsauren Barytsalzes, das er aus der Galle eines hingerichteten Verbrechers

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 293.

**) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 6. S. 1026.

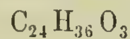
***) Jahresber. f. Thierchemie v. Maly. 1878. S. 263.

darstellte, dass die Glycocholsäure des Menschen eine von der gewöhnlichen aus Rindsgalle verschiedene Säure sei.

Die Hyocholalsäure $C_{25}H_{40}O_4$ findet sich mit Glycin und Taurin gepaart in der Schweinsgalle, ist dagegen ohne diese Paarlinge noch nirgends aufgefunden. Sie löst sich leicht in Alkohol oder Aether, nicht in Wasser. Sie krystallisirt schwer in kleinen Warzen und ihre Alkalisalze werden wie Seifen durch concentrirte Salzlösungen gefällt. Beim Kochen mit Salzsäure giebt sie Hyodyslysin $C_{25}H_{38}O_3$, welches dem Dyslysin sich sehr ähnlich verhält Die Hyocholalsäure giebt die Pettenkofer'sche Reaction*).

Die Chenocholalsäure $C_{27}H_{44}O_4$, der vorigen in der Zusammensetzung homolog, wird aus der Taurochenocholsäure durch Kochen mit Barytwasser erhalten (vergl § 158). Sie krystallisirt sehr schwer beim Stehen der alkoholischen mit Wasser versetzten Lösung, ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol oder Aether; die Lösungen reagiren sauer, die Säure giebt die Pettenkofer'sche Reaction, wird durch Kalilauge gelöst, aber in concentrirter Kalilauge ist das Kalisalz nicht löslich. Das Barytsalz ist unlöslich in Wasser**).

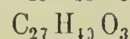
Die früher allgemein angenommene Choloidinsäure $C_{24}H_{38}O_4$ würde homolog sein der Hyocholalsäure und der Chenocholalsäure, aber an ihrer Existenz ist so lange zu zweifeln, bis Salze derselben bekannt sind; die früher als solche beschriebenen Körper haben die Zusammensetzung cholalsaurer Verbindungen. Die Choloidinsäure soll durch Kochen der Cholalsäure oder der Säuren der Rindsgalle mit Salzsäure oder Schwefelsäure entstehen. Die Glycocholsäure giebt jedoch hierbei Cholonsäure, ein amorphes Anhydrid, und die Cholalsäure ebenso wie die Hyo- und Chenocholsäure ihre Anhydride, die sog. Dyslysine:



$$C_{24}H_{36}O_3$$



$$C_{25}H_{38}O_3$$



$$C_{27}H_{42}O_3$$

Da nun die Dyslysine in den Lösungen der Cholalsäure oder ihrer Salze löslich sind, so ist es schwer, eine Entscheidung über die Existenz einer Säure der Formel $C_{24}H_{38}O_4$ zu erhalten.

Nachweis der Gallensäure. Pettenkofer's Gallenprobe.

155. In concentrirter Schwefelsäure löst sich Cholalsäure auf. Fügt man zu einer etwas Cholalsäure enthaltenden wässerigen Flüssigkeit im Probirglase ein wenig Rohrzucker und dann allmälig tropfenweise unter Umschütteln concentrirte Schwefelsäure, indem man durch Erwärmen oder Abkühlen in kaltem Wasser die Temperatur auf etwa 70° erhält, so tritt, wenn die zunächst gefällte Cholalsäure durch den weiteren Zusatz der Schwefelsäure wieder gelöst ist, und noch weiter Schwefelsäure zugesetzt wird, eine zuerst kirschrothe, dann

---

*) Strecker und Gundlach, Ann. Chem. Pharm. Bd 62. S. 205.

**) Heintz und Wislicenus, Pogg, Ann Bd. 108. S. 547. und R. Otto, Zeitschr. f. Chem. 1868. S. 635.

prachtvoll purpurrothe Färbung der Flüssigkeit ein, die sich nun unter allmäligem Dunklerwerden mehr in eine blaurothe Farbe im Verlaufe von etwa 8 Tagen umwandelt.

Anwesenheit von Albuminstoffen und solchen Körpern, die mit Schwefelsäure leicht sich zersetzen, sowie Anwesenheit von viel Farbstoffen oder oxydirenden Substanzen beeinträchtigen die Reaction sehr.

Albuminstoffe geben mit concentrirter Schwefelsäure auch ähnliche Purpurfärbung, ebenso Amylalkohol und andere organische Körper. Weitere Angaben über die Pettenkofer'sche Probe giebt Bischoff (Zeitschr. f. ration. Med. Ser. 3. Bd. 21. S. 126).

Nach Schenk*) giebt die purpurrothe Lösung der mit Schwefelsäure und Zucker behandelten Gallensäuren in passender Verdünnung mit Alkohol bei der Spectralprüfung einen Absorptionsstreif zwischen D und E neben letzterer Linie und einen zweiten vor F. Diese Spectralerscheinung tritt bei der gleichen Behandlung von Eiweissstoffen, Oelsäure, Amylalkohol nicht ein.

In concentrirter Schwefelsäure gelöst giebt Cholalsäure eine sehr stark grün fluorescirende Lösung nach kurzer Zeit. Auch dies Verhalten kann zur Erkennung der Gallensäure mit benutzt werden.

Auch in einer weingeistigen Lösung der Gallensäure kann diese Farbenreaction mit Schwefelsäure bei vorsichtigem Zusatz hervorgerufen werden. Diese Reaction ist nach Erfahrung des Verf. viel weniger zuverlässig als die Pettenkofer'sche Probe.

Aus den Fäces oder Dickdarminhalte kann die Cholalsäure mit Alkohol vollkommen extrahirt werden. Man dampft das abfiltrirte Extract im Wasserbade unter Zusatz von etwas Essigsäure zum Syrup ab und zieht den Rückstand mit kaltem Wasser aus. Das Ungelöste übergiesst man mit Barytwasser, fügt noch Wasser hinzu unter Erwärmen, leitet dann Kohlensäure bis zur neutralen Reaction ein, erhitzt jetzt zum Sieden und filtrirt siedend heiss, kocht den Rückstand noch so lange mit Wasser aus, als dieses etwas löst, dampft die vereinigten heiss filtrirten Auszüge auf ein kleines Volumen ab, fügt erst etwas Aether nach dem Erkalten hinzu, darauf Salzsäure, rührt gut um und lässt einige Zeit stehen, wobei der Aether verdunsten kann. Dann filtrirt man, wäscht die ausgeschiedene Cholalsäure mit etwas Wasser, löst sie in Alkohol, entfärbt nöthigenfalls mit Thier-

*) Schenk, Anatom. physiol. Untersuchungen. Wien 1872. S. 47.

kohle, dampft auf ein kleineres Volumen ein und lässt dann zur Krystallisation einige Zeit stehen.

Die Krystallformen, die rechtsseitige Circumpolarisation der alkoholischen Lösung, die aromatischen Producte der trocknen Destillation und die Pettenkofer'sche Probe geben dann Bestätigung für die Identität des erhaltenen Körpers mit der Cholalsäure.

Der Nachweis der Cholalsäure im icterischen Harne, sowie in der Galle wird bei der Betrachtung der Untersuchungsmethoden des Harnes und der Galle im zweiten Theile besprochen werden.

156. Lithofellinsäure $C_{20}H_{36}O_4$, bis jetzt nur in den seltenen orientalischen Bezoaren gefunden, die fast ganz aus dieser Säure bestehen. Man extrahirt sie aus den gepulverten Bezoaren mit kochendem Alkohol; aus der concentrirten alkoholischen Lösung scheidet sie sich allmälig in Krusten stark glänzender, farbloser, harter, wasserfreier Krystalle aus. Diese Krystalle stellen sehr spitzige Rhomboeder oder dreiseitige Säulen meist mit zugerundeten Flächen dar. Um sie zu reinigen, versetzt man die spirituöse Lösung der Säure mit kohlensaurem Natron im Ueberschusse, verdunstet zur Trockne, extrahirt mit absolutem Alkohol, filtrirt, verdunstet den Alkohol, löst den Rückstand in Wasser und fällt mit Chlorbarium. Der Niederschlag wird mit heissem Wasser ausgewaschen, die Lösung darauf durch Abdampfen concentrirt, und dann Essigsäure hinzugefügt, so lange Niederschlag erfolgt. Die gefällte reine Lithofellinsäure wird nach dem Abfiltriren und Waschen mit Wasser in wenig siedendem Weingeist gelöst; nach dem Erkalten scheidet sie sich allmälig schön krystallisirt aus.

Die Krystalle schmelzen bei 205°, etwas darüber erhitzt, bleibt die Masse amorph. An der Luft stark erhitzt, giebt die Lithofellinsäure dieselben aromatischen Dämpfe, wie die Cholalsäure; sie giebt ferner sehr schöne Pettenkofer'sche Reaction, besitzt rechtsseitige Circumpolarisation nach Roster*) $(\alpha)_D = + 13{,}76^0$, ist leicht löslich in heissem, schwer in kaltem Alkohol und wenn krystallisirt unlöslich in Wasser, dagegen scheint die aus ihren Salzen eben abgeschiedene weiche amorphe Säure in Wasser löslich zu sein. In Aether ist sie schwer löslich. Ihre Alkalisalze krystallisiren sehr schwer, das Barytsalz krystallisirt in feinen Nadeln beim Erkalten der heiss concen-

*) Gaz. chim. italian. T. 9. p. 364. G. Roster, Su l'acido lithofellico etc. Firenze 1879.

trirten wässerigen Lösung. Die Alkalisalze sind leicht löslich in Wasser, werden aber durch Aetzalkali, kohlensaures Alkali oder andere Salze aus der concentrirten heissen Lösung in öligen Tropfen ausgeschieden. Die Lithofellinsäure hat in Verbindung mit Alkalien grössere spec. Drehung als im freien Zustande (Roster). Durch Kochen mit starker Säure oder Alkalilauge werden amorphe Substanzen gebildet.

Zum Nachweise der Lithofellinsäure können besonders die Krystallformen, der hohe Schmelzpunkt, die aromatischen Destillationsproducte, die Pettenkofer'sche Reaction, das Verhalten der Alkali- und Barytsalze dienen.

Neben Lithofellinsäure fand Roster*) in orientalischen Bezoaren die einbasische Lithobilinsäure $C_{30}H_{58}O_6$ (?), Schmelzpunkt 199°, welche krystallisirt erhalten wurde, unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, mässig löslich in Aether ist und stärkere Rechtsdrehung als Lithofellinsäure zeigt.

Glycocholsäure $C_{26}H_{43}NO_6$.

157. Die Glycocholsäure, auch Cholsäure genannt, findet sich besonders reichlich in der Rindergalle, in menschlicher Galle soll sie gleichfalls sehr reichlich enthalten sein, bei Fleischfressern fehlt sie ganz, so weit deren Gallen bis jetzt untersucht sind. Sie ist in der Rindergalle hauptsächlich an Natron gebunden. In geringer Quantität ist sie in den Excrementen der Rinder nachgewiesen, auch icterischer menschlicher Harn enthält fast immer Spuren davon.

Man erhält sie aus der Rindergalle durch Eindampfen derselben zum dicken Syrup, Extraction desselben mit starkem Alkohol, Entfärben des Extractes mit Thierkohle, Abdestilliren des Alkohols und Fällung der concentrirt alkoholischen Lösung durch einen Ueberschuss von Aether. Das glycocholsaure und taurocholsaure Natron werden hierdurch niedergeschlagen; man löst den Niederschlag nach einiger Zeit (er verwandelt sich in einigen Stunden bis Tagen in schöne seideglänzende Krystallbüschel) in wenig Wasser und fügt so lange verdünnte Schwefelsäure hinzu, bis eine starke, beim Umrühren bleibende Trübung entstanden ist, nach einigen Stunden zeigt sich die ganze Flüssigkeit zum Brei feiner, seideglänzender Nadeln erstarrt, die man auf einem Filter sammelt, auspresst, mit Wasser wäscht und durch Lösen in der gerade hinreichenden Menge Alkohol und Fällung mit

---

*) Roster, Sopra un nuovo acido lithobilico etc. Firenze 1879.

sehr viel Aether in farblosen, dünnen, langen, sehr schön glänzenden Nadeln rein krystallisirt erhält.

Ein etwas kürzeres Verfahren ist von Gorup-Besanez*) empfohlen: Ochsengalle wird im Wasserbade bis nahe zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit Weingeist von 90 pCt. extrahirt, der Alkohol abdestillrt oder verdunstet und der nöthigenfalls mit Wasser verdünnte Rückstand mit Kalkmilch versetzt. Nach gelindem Erwärmen wird filtrirt, das meist schwach gelbe Filtrat nach dem Erkalten mit verdünnter Schwefelsäure bis zur bleibenden Trübung versetzt (Ueberschuss der Schwefelsäure ist zu vermeiden). Nach wenigen Stunden ist die Flüssigkeit zu einem Krystallbrei erstarrt, der abfiltrirt und ausgepresst nochmals in viel Kalkwasser gelöst und mit verdünnter Schwefelsäure bis zur bleibenden Trübung versetzt nach einiger Zeit die Säure in blendend weissen Nadeln liefert.

Häufig gelingt es durch Versetzen der concentrirten Rindsgalle mit genügender Quantität Salzsäure, Aetherzusatz und Stehenlassen ohne Weiteres schön krystallisirte Glycocholsäure zu erhalten, die in der Sonne nach Waschen mit Wasser schnell sich entfärbt.

Die Glycocholsäure löst sich sehr schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser und krystallisirt beim Erkalten aus, auch in Aether lösen sich nur Spuren, leicht löslich ist sie dagegen in starkem Alkohol. Die alkoholische Lösung wird durch Wasserzusatz getrübt und scheidet Flocken und Tropfen ab, die sich allmälig in feine Krystalle umwandeln. In Alkalilaugen, auch den Lösungen kohlensaurer Alkalien ist sie leicht löslich, indem sie sich mit dem Alkali verbindet. Sie besitzt süsslichen Geschmack und reagirt in ihren Lösungen sauer, treibt beim Abdampfen mit kohlensauren Salzen die Kohlensäure aus und bildet in Wasser oder Alkohol gut lösliche Alkalisalze. Man erhält dieselben beim kochenden Abdampfen ihrer alkoholischen Lösung in dünnen vierseitigen Prismen krystallisirt. Das Barytsalz ist in Wasser leicht löslich, auch das Silbersalz löst sich etwas in Wasser, besonders beim Erwärmen. Die wässerige Lösung glycocholsaurer Alkalien wird durch neutrales essigsaures Bleioxyd gefällt, der Niederschlag löst sich in heissem Alkohol und scheidet sich beim Erkalten zum Theil pulverig oder flockig wieder aus. Die Alkalisalze in Wasser gelöst vermögen verseifbare Fette in geringer Menge klar aufzulösen.

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 157. S. 286.

Sowohl die freie als die an Basen gebundene Glycocholsäure besitzt rechtsseitige Circumpolarisation. Die specifischen Drehungen der alkoholischen Lösungen für die Linie D sind:

Glycocholsäure $+ 29,0^0$
Glycocholsaures Natron $+ 25,7^0$.

Durch anhaltendes Kochen mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure, ebenso durch Kochen mit Alkalilauge oder heiss gesättigtem Barytwasser wird die Glycocholsäure in Cholalsäure und Glycocoll zersetzt. Trägt man dagegen Glycocholsäure in concentrirte Schwefelsäure ein, so löst sie sich auf, erwärmt man dann, so scheidet sich Cholonsäure $C_{26}H_{41}NO_5$ als amorpher Niederschlag aus, welcher in Wasser sich nicht löst, in Alkohol leicht löslich ist und nicht krystallisirt. Diese Säure bildet sich auch neben Cholalsäure beim Kochen von Glycocholsäure mit starker Salzsäure. Ihr Barytsalz ist in Wasser unlöslich und hierdurch unterscheidet sie sich sowohl von der Glycocholsäure, als auch von der Cholalsäure. Auch die Cholonsäure bewirkt rechtsseitige Circumpolarisation und hat eine der Glycocholsäure etwa gleiche specifische Drehung.

Um die Glycocholsäure in thierischen Flüssigkeiten aufzusuchen, verfährt man nach den bei der Taurocholsäure im folgenden Paragraphen angegebenen Methoden.

Taurocholsäure $C_{26}H_{45}NSO_7$.

158. Neben der Glycocholsäure findet sich die Taurocholsäure, auch Choleïnsäure genannt, in der Rindsgalle. Die Hundegalle enthält allein Taurocholsäure, die Menschengalle schwankende geringe Mengen. Auch die Galle der Schlangen und Fische enthält Taurocholsäure. In dem icterischen Harne können ganz geringe Spuren derselben vorhanden sein. In der Galle ist diese Säure stets an Alkali gebunden.

Man stellt Taurocholsäure am Reinsten aus der Hundegalle dar, indem man dieselbe mit Alkohol fällt, Blutkohle hinzufügt, filtrirt und mit Alkohol auswäscht, die Flüssigkeit zur Trockne verdunstet, den Rückstand mit wenig absolutem Alkohol extrahirt, filtrirt, diese Lösung mit einem Ueberschusse von Aether schüttelt und dann verschlossen stehen lässt, bis der zuerst amorphe Niederschlag krystallinisch geworden ist. Nach Abgiessen des Aethers löst man die Krystalle in Wasser und fällt mit Bleiessig und etwas Ammoniak, wäscht

den Niederschlag auf dem Filter, zertheilt ihn in möglichst starkem Alkohol, leitet Schwefelwasserstoff bis zur völligen Zersetzung des Niederschlags hindurch, filtrirt und dampft die alkoholische Lösung bei sehr mässiger Wärme auf ein kleines Volumen ein und fällt mit grossem Ueberschuss von wasserfreiem Aether. Der syrupartige Niederschlag verwandelt sich beim Stehen grösstentheils in feine, seideglänzende, an der Luft schnell zerfliessende Krystalle. Die Säure zeigt stark saure Reaction, ist sehr löslich in Wasser oder Alkohol, zersetzt sich beim Abdampfen der wässerigen Lösung zur Trockne und ist überhaupt auch in ihren Verbindungen viel zersetzlicher als die Glycocholsäure. Ihr Natronsalz wird bei der beschriebenen Darstellungsmethode krystallisirt in sehr feinen Nadeln sehr ähnlich dem glycocholsauren Natron erhalten. Ihr Barytsalz ist leicht löslich in Wasser, überhaupt sind ihre Salze in Wasser löslich, nur durch essigsaures Bleioxyd und Ammoniak wird sie vollständig gefällt. Sie besitzt in ihren Lösungen rechtsseitige Circumpolarisation, die spec. Drehung des in Alkohol gelösten taurocholsauren Natron ist für die Linie D $+ 24{,}5^{0}$, in wässeriger Lösung zeigt dies Salz schwächere Drehung ebenso wie auch das glycocholsaure Natron in wässeriger Lösung eine Verminderung der Circumpolarisation ergiebt. Durch Kochen mit verdünnter Säure oder mit Alkalilaugen, sogar nur mit Wasser wird die Taurocholsäure leicht zerlegt. Sie zerfällt dabei in Taurin und Cholalsäure in der gleichen Weise, wie die Glycocholsäure sich, wenngleich viel schwerer, in Glycocoll und Cholalsäure spaltet. Die gleiche Zersetzung erleidet die Taurocholsäure auch bei der Fäulniss der Galle und bei ihrer Wanderung durch den Darmcanal. Da sich neben Glycocholsäure auch Cholalsäure im icterischen Harne findet, wird sie wahrscheinlich auch in der Niere auf die gleiche Weise zersetzt.

Zu der Trennung der Taurocholsäure von Glycocholsäure und Cholalsäure benutzt man besonders das verschiedene Verhalten dieser Säuren zur Bleizuckerlösung. Durch die letztere werden Cholalsäure und Glycocholsäure gefällt, während nur sehr geringe Mengen von Taurocholsäure mitgerissen werden, wenn die Flüssigkeit nicht stark alkalisch ist. Nach der Ausfällung dieser Säure kann die Taurocholsäure mit Bleiessig und etwas Ammoniak gefällt werden. Den Bleiniederschlag bringt man in Alkohol, fügt überschüssige Lösung von kohlensaurem Natron hinzu, dampft das Ganze zur Trockne ab und extrahirt das Natronsalz der Taurocholsäure aus dem Rückstande mit

absolutem Alkohol, der die übrigen Substanzen ungelöst lässt. Zum weiteren Nachweis der Taurocholsäure dient ihre Zerspaltung durch 12stündiges Kochen mit heiss gesättigtem Barytwasser (am Besten im zugeschmolzenen Glasrohre im Wasserbade) in Cholalsäure und Taurin. Man leitet nach dem Kochen Kohlensäure bis zur Sättigung des freien Baryts hindurch, verdampft zur Trockne, extrahirt den Rückstand mit wenig kaltem Wasser, welches das Taurin löst, dann kocht man denselben mit Wasser aus, filtrirt heiss und weist dann in der ersteren Lösung nach § 117 das Taurin und nach § 154 in der letzteren Lösung die Cholalsäure nach.

In den meisten Fällen reicht es hin, den Schwefelgehalt nach § 60 zu bestimmen und ausserdem die Pettenkofer'sche Probe zu machen, um bei einer in Alkohol löslichen Substanz Sicherheit zu erlangen, ob sie Taurocholsäure enthält. Natürlich muss die Abwesenheit von Schwefelsäure sicher sein, dieselbe also, falls sie vorhanden, durch Fällung mit etwas Barytwasser entfernt sein, ehe man mit Salpeter verbrennt und auf Schwefelsäure prüft.

Glycohyocholsäure $C_{27}H_{43}NO_5$. Diese Säure, auch Hyocholsäure genannt, ist bis jetzt nur in der Schweinegalle gefunden, aus der man ihr Natronsalz nach Entfärbung mittelst Thierkohle durch Zusatz von krystallisirtem schwefelsauren Natron bis zur Sättigung abscheidet. Man wäscht den Niederschlag mit concentrirter Lösung von schwefelsaurem Natron, löst den Niederschlag in Wasser und fällt mit Salzsäure die Säure aus. Die so erhaltene Hyoglycocholsäure ist in Wasser unlöslich, farblos, harzartig, noch nicht krystallisirt erhalten, leicht löslich in Alkohol, wenig löslich in Aether, schmeckt bitter, giebt saure Reaction in alkoholischer Lösung, verbindet sich mit Alkalien zu in Wasser löslichen Salzen; die Salze der alkalischen Erden und schweren Metalle sind unlöslich in Wasser, aber meist löslich in Alkohol. Die Alkalisalze werden durch Salze, z. B. schwefelsaures Natron, bis zur Sättigung eingetragen aus der wässerigen Lösung ausgefällt. Beim Kochen mit Salzsäure oder Alkalilauge wird die Glycohyocholsäure in Glycocoll und Hyocholalsäure zerlegt (vergl. § 154).

Taurohyocholsäure $C_{27}H_{45}NSO_6$, auch Hyocholeïnsäure genannt, findet sich in geringer Menge neben der Hyoglycocholsäure in der Schweinegalle, ist aber noch nicht in reinem Zustande dargestellt. Sie wird durch Säuren oder Alkalien leicht in Taurin und Hyocholalsäure zerlegt*).

Taurochenocholsäure**) findet sich in der Gänsegalle. Sie ist nur amorph bekannt, leicht löslich in Wasser oder Alkohol. Ihr Natronsalz wird aus der Gänsegalle durch Alkohol ausgezogen, durch Zusatz von Aether pflasterartig gefällt, mit einer concentrirten Lösung von schwefelsaurem Natron gewaschen,

*) A. Strecker, Ann. Chem. Pharm. Bd. 62. S. 205.

**) Heintz u. Wislicenus, Pogg. Ann. Bd. 108. S. 547 u. R. Otto, Zeitschrift für Chem. 1868. S. 633.

getrocknet, in absolutem Alkohol gelöst und die klar filtrirte Lösung mit Aether gefällt. Nach längerem Stehen setzen sich kleine rhombische Tafeln des taurochenocholsauren Natron von der Zusammensetzung $C_{29}H_{50}NNaSO_7$ (nach dem Trocknen bei 140° aber $C_{29}H_{48}NNaSO_6$) ab. Dies Salz wird in wässeriger Lösung durch Bleiessig gefällt. Aus dem Niederschlage in Alkohol vertheilt kann man die Taurochenocholsäure durch Schwefelwasserstoffeinleiten lösen und durch Abdampfen der Lösung gewinnen, dabei bildet sich etwas unlösliche Parataurochenocholsäure (?). Durch anhaltendes Kochen mit Barytwasser wird sie in Taurin und Chenocholalsäure zerlegt. Sie giebt gegen Zucker und Schwefelsäure die allgemeine Gallensäurereaction (vergl. § 155)

Guanogallensäure. Im Peru-Guano findet sich eine Gallensäure, welche durch Wasser ausgezogen und mit Salzsäure gefällt wird. Alkohol löst sie auf und man erhält sie nach Entfärben mit Blutkohle beim Abdampfen der alkoholischen Lösung als amorphe, gelbliche, in Wasser unlösliche Masse, welche etwas Stickstoff, keinen Schwefel enthält. Das Natronsalz ist leicht löslich, das Barytsalz etwas schwerer in Wasser löslich, beide lösen sich leicht in Alkohol. Diese Säure giebt die Pettenkofer'sche Reaction gleichfalls ganz gut, auch löst sie sich in concentrirter Schwefelsäure zu einer grünlich fluorescirenden Flüssigkeit*).

Farbstoffe.

Hämochromogen.

159. Bei der Zersetzung der Oxyhämoglobine (vergl. § 190) durch Säuren oder Alkalien entsteht stets Hämatin neben Eiweissstoffen, bei der Einwirkung dieser Agentien auf die Hämoglobine bildet sich zunächst stets Hämochromogen, welches bei Anwesenheit selbst geringer Quantität von freiem Sauerstoff sofort in Hämatin übergeht, bei Abwesenheit von Sauerstoff in saurer Lösung bald zerfällt und unter Abspaltung von Eisen in Hämatoporphyrin übergeht, in alkalischer Lösung dagegen bestehen bleibt. In schwachen Alkalilaugen oder Sodalösung löst sich das Hämochromogen mit schön kirschrother Farbe und bei genügender Verdünnung zeigen sich bei der Spectraluntersuchung zwei sehr deutliche Absorptionsstreifen, von denen der eine tief schwarze Streifen zwischen D und E, etwas näher an D als an E, doch fast in der Mitte zwischen beiden Liniengruppen steht, während der andere nicht so dunkele und bei der Verdünnung der Lösung früher verschwindende Streifen auf der Liniengruppe E liegt, sich bis oder über b ausbreitet und ungefähr eben so weit auch von E nach D hin. Auch bei starker Concentration der Lösung

*) Hoppe-Seyler, Archiv. f. path. Anat. Bd. 26. S. 525.

zeigen sich keine anderen Absorptionsstreifen und das blaue Licht bis G hin ist sehr wenig absorbirt.

Das Hämochromogen hat wahrscheinlich die Zusammensetzung $C_{34}H_{36}N_4FeO_5$ und nimmt beim Uebergange in Hämatin auf 2 Molecule 1 Atom Sauerstoff auf, so dass Hämatin und 1 Molecule Wasser entstehen. Seine Isolirung ist bis jetzt noch nicht möglich gewesen wegen der grossen Zersetzlichkeit mit Sauerstoff und Säuren. Sauerstoff nimmt es unter Veränderung der Färbung sofort auf, sowie die Lösung an die Luft kommt; selbst verdünnte Säuren in alkoholischer Lösung entziehen ihm auch bei gewöhnlicher Temperatur sehr bald das Eisen und es bildet sich das an der Luft beständige Hämatoporphyrin, dessen Darstellung auch aus Hämatin leicht gelingt und dessen Reduction mit Zinn und Salzsäure u. s. w. zu Farbstoffen führt, die mit dem Urobilin identisch oder ihm sehr nahe verwandt sind. Eine künstliche Umwandlung des Hämochromogen in Bilirubin oder einen anderen Gallenfarbstoff ist noch nicht gelungen.

Die von Stokes*) beschriebenen Spectralerscheinungen des sog. reducirten Hämatin sind mit denen der alkalischen Lösung des Hämochromogens identisch.

Hämochromogen bildet sich sehr häufig in Spirituspräparaten von Pankreas, Leber, Milz, Muskeln. Uebergiesst man die Organe im Ganzen oder nach ihrer Zerkleinerung mit Alkohol und lässt ohne Umrühren einige Tage stehen, so zeigen sich die unteren Schichten rosenroth bis purpurroth, die oberen grau bis bräunlich und die spectroskopische Untersuchung des reflectirten Lichtes ergiebt in den rothen unteren Schichten die Spectralstreifen des Hämochromogen mit aller Schärfe. Bringt man sie an die Luft, so werden sie bald oberflächlich graubraun durch Hämatinbildung. Uebergiessen mit Aether wirkt ähnlich wie Alkohol, und so sind wahrscheinlich die Angaben von Struve**) zu erklären. Bei längerem ruhigen Stehen unter Alkohol verliert sich langsam von oben nach unten die Hämochromogenfärbung entsprechend dem Sauerstoffzutritt und Aufhören der Fäulniss durch Diffusion des Alkohol.



Hämatin $C_{68}H_{70}N_8Fe_2O_{10}$.

160. Das Hämatin ist nur als Zersetzungsproduct des Oxyhämoglobins oder Oxydationsproduct des Hämochromogens bekannt,

*) Proceedings of the royal Soc. June 1864.
**) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 9. S. 623.

findet sich als solches im Organismus, selten in alten Blutextravasaten, häufig im Darmcanale, wo es durch die Einwirkung des Magensaftes auf ausgetretenes Blut oder auf den Blutfarbstoff in Speisen gebildet wird oder wohin das Hämatin in den Speisen bereits präformirt gelangt. Es findet sich daher auch bei Fleischnahrung stets in den Fäces.

Die Reindarstellung des Hämatin hat bedeutende Schwierigkeit zu überwinden. Frei von Fetten, Cholesterin und Eiweissstoffen erhält man es vielleicht 1) durch Schütteln von defibrinirtem Blut mit Aether, Zusatz von starker Essigsäure, wiederholtes Schütteln, Abgiessen und Filtriren der dunkelbraunen ätherischen Lösung sofort nachdem sie sich abgeschieden hat, Stehenlassen, Abfiltriren des ausfallenden Niederschlages und Waschen desselben mit Aether, Alkohol und Wasser.

2) Durch Fällen von Blut mit überschüssigem kalten Weingeist, Erwärmen des abfiltrirten Niederschlages mit schwefelsäurehaltigem Alkohol, Stehenlassen der warm filtrirten Lösung und Waschen des an den Glaswänden sich niederschlagenden schwefelsauren Hämatin mit Wasser und dann mit etwas Alkohol und Aether.

Jedenfalls sind diese Methoden zur Gewinnung des Hämatin weniger geeignet als die Darstellung desselben aus den Häminkrystallen (vergl. folg. §). Die mit starker Essigsäure gekochten, mit viel Wasser, endlich mit Alkohol und Aether gewaschenen Häminkrystalle werden in äusserst verdünnter reiner Kalilauge gelöst, die filtrirte Lösung mit verdünnter Salzsäure gefällt und mit heissem Wasser der flockige braune Niederschlag gewaschen, bis das ablaufende Wasser durch salpetersaures Silber keine Trübung mehr giebt (es ist langes Auswaschen hierzu erforderlich). Das Hämatin wird dann erst bei mässiger Wärme, endlich bei 120° bis 150° getrocknet.

Das so erhaltene Hämatin besitzt blauschwarze Farbe und lebhaften Metallglanz, ist nicht erkennbar krystallisirt, giebt aber so wie manches in Glanz und Farbe ihm ähnliche Rothgiltigerz einen braunen Strich auf Porzellan und fein pulverisirt ein dunkelbraunes Pulver, ist somit pleochromatisch. Es kann auf 180° erhitzt werden, ohne dass es sich zersetzt, stark erhitzt verkohlt oder verglimmt es ohne sich aufzublähen unter Entwickelung von Blausäure und lässt in der Form feiner Stücke, die zum Versuche verwendet wurden, ein Skelett von reinem (auch manganfreiem) Eisenoxyd (12,6 pCt. des Hämatin betragend) zurück. Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether,

Chloroform, ein wenig löslich in Eisessig, besonders in der Wärme. In säurehaltigem Alkohol löst es sich in geringer Menge auf, gar nicht in wässerigen säurehaltigen Flüssigkeiten; es löst sich ferner in allen Alkalilösungen, auch sehr verdünnten, selbst in Alkohol beim Zusammenschütteln mit kohlensaurem Alkali. Die alkalischen Lösungen erscheinen in dickeren Schichten in durchfallendem Lichte schön roth, in dünner Schicht olivengrün, die sauren Lösungen in jeder Dicke der Schicht braun gefärbt. Beide Lösungen absorbiren am Wenigsten das äusserste Roth im Spectrum des Sonnen- oder Lampenlichtes bis etwa zur Spectrallinie B, am Stärksten, wie es scheint, das violette Licht. Bis zu einer Concentration von 0,015 Grm. Hämatin in 100 CC. Lösung zeigt dieselbe bei einer Dicke der Flüssigkeitsschicht von 1 Cm. einen schlecht begrenzten Absorptionsstreifen zwischen den Linien C und D, letzterer Linie anliegend; in schwefelsäurehaltigem Alkohol gelöst vor den Spectralapparat gebracht, giebt das Hämatin einen Absorptionsstreifen nahe bei C zwischen dieser Linie und D, ein anderer weniger scharf begrenzter, viel breiterer und bei weiterer Verdünnung etwas früher verschwindender findet sich zwischen D und F. Dieser letztere Streif zerlegt sich bei vorsichtiger Verdünnung der Flüssigkeit zunächst in zwei ungleich dunkle Bänder; das neben F befindliche ist dunkler, der hellste Zwischenraum zwischen E und b. Ein sehr schmaler schwacher Streif erscheint bei gewisser Verdünnung zwischen D und E, dicht neben D. Durch Behandlung mit Schwefelammonium oder einer ammoniakalischen Lösung von weinsaurem Zinnoxydul oder anderen Reductionsmitteln verändert die Hämatinlösung ihre Farbe und zeigt bei der Spectraluntersuchung einen dunklen, schmalen, ziemlich scharf begrenzten Absorptionsstreifen zwischen D und E, der ersteren Linie etwas näher, und einen blasseren Streifen, welcher die Linien E und b einschliesst, die Spectralstreifen des Hämochromogens.

Fügt man zu einer alkalischen Hämatinlösung Cyankalium, so wird die Lösung durchsichtiger rothbraun, absorbirt am Schwächsten das Licht zu beiden Seiten der Linie C des Sonnenspectrum und zeigt beim Verdünnen einen schlecht begrenzten Absorptionsstreifen zwischen D und E. Die Spectra des Hämatin in diesen verschiedenen Lösungen sind in § 191 im Holzschnitt dargestellt im Vergleiche mit den Spectren des Hämoglobins.

Alkalische Lösungen von Hämatin werden durch Kalk oder Barytsalze in rothbraunen Flocken gefällt, auch Niederschläge von

phosphorsaurem Kalk nehmen Hämatin als Lösungen in sich auf. Auf dieser letzteren Eigenschaft beruht eine Methode des Nachweises von Blut im Harne. Enthält der Harn Blutfarbstoff, so giebt er mit Aetzalkali erwärmt einen hämatinhaltigen und daher rothgefärbten Niederschlag von phosphorsaurem Kalk. In ammoniakalischer Lösung scheint das Hämatin allmälige Veränderung zu erleiden; auch beim Trocknen einer solchen Lösung bei 100° wird Ammoniak hartnäckig zurückgehalten in einer Verbindung, die sich in Wasser sehr leicht auflöst. Durch Kochen mit concentrirter Kalilauge erleidet dagegen das Hämatin keine bemerkbare Aenderung, beim Schmelzen mit Kali entweicht Ammoniak, doch geht die Zerlegung sehr langsam vor sich. Auch durch Erhitzen mit starker Salzsäure wird das Hämatin nicht zersetzt, verdünnte Salpetersäure greift es auch beim Kochen schwer an, sehr schnell wird es unter Entfärbung zersetzt, wenn Chlor in seine alkalische Lösung eingeleitet wird. In concentrirter Schwefelsäure löst es sich zu einer dunkelrothen Flüssigkeit ohne Gasentwickelung, wird diese Lösung in Wasser eingetragen, so wird ein eisenfreier Körper gefällt, der in Alkalien leicht löslich und in manchen Eigenschaften dem Hämatin ähnlich ist, bei der Spectraluntersuchung jedoch sich sehr sicher von letzterem unterscheiden lässt. Die Spectra, welche dies eisenfreie Hämatin in Flüssigkeiten nachweist, sind in § 191 abgebildet. Hinsichtlich des Nachweises des Hämatin in Flüssigkeiten und Niederschlägen, sowie der Beziehungen zum Oxyhämoglobin, Hämoglobin vergl. Nachweis des Hämoglobin in demselben Paragraphen.

Salzsaures Hämatin oder Hämin $C_{68}H_{70}N_8Fe_2O_{10} + 2ClH$.

161. Die Teichmann'schen Häminkrystalle erhält man durch Kochen einiger Tropfen Blut im Probirglase mit überschüssiger sehr starker Essigsäure im Kleinen oder durch Eindampfen eines Tropfens Blut mit mehreren Tropfen Eisessig auf dem Wasserbade, man gewinnt auf diese Weise Objecte für den mikroskopischen Nachweis des Blutfarbstoffs. Im grösseren Maassstabe stellt man am Zweckmässigsten nach folgendem Verfahren ziemlich reine Häminkrystalle dar: Defibrinirtes Blut irgend eines Thieres wird mit grossem Ueberschuss einer vorher bereiteten Mischung von 1 Volumen gesättigter Kochsalzlösung und 10—20 Volumen Wasser gemischt 24 Stunden stehen gelassen, vom Niederschlag die Flüssigkeit abgegossen, der Blutkörperchenbrei mit Wasser in einen Kolben gebracht und mit dem halben

Volumen Aether geschüttelt, die Aetherlösung nach einiger Zeit der Ruhe abgehoben, die wässerige Lösung des Blutfarbstoffs etc. filtrirt und in flachen Schalen bei gewöhnlicher Temperatur zum Syrup verdunsten gelassen. Der letztere mit dem 10- bis 20fachen Volumen Eisessig gut zusammengeschüttelt und im Kolben auf dem Wasserbade eine bis zwei Stunden erhitzt. Die Krystalle bilden sich meist schon bei mässigem Erwärmen, doch ist längeres Erhitzen zur vollständigen Ausfällung der Krystalle und Lösung der Eiweissstoffe (die jedoch nie vollständig ist) nöthig. Die Masse wird dann in ein grosses Becherglas ausgegossen und mit dem mehrfachen Volumen Wasser gemischt mehrere Tage stehen gelassen, der auf dem Boden abgesetzte Krystallbrei noch mehrmals mit Wasser gewaschen, mit starker Essigsäure ausgekocht, so lange sich noch Spuren gequollener Eiweissstoffe beigemengt zeigen, wieder mit Wasser gewaschen, dann erst aufs Filter gebracht und mit Alkohol, endlich mit Aether gewaschen. Man erhält auch Häminkrystalle durch Erwärmen von Hämatinlösung in schwefelsäurehaltigem Weingeist nach Zusatz von etwas Wasser und wenig Kochsalz.

Man kann die Krystalle noch umkrystallisiren nach folgendem von Gwosdew*) angegebenen Verfahren: Man löst die Krystalle in absolutem Alkohol, der mit gepulvertem kohlensauren Kali unter öfterem Umschütteln einige Zeit gestanden hat, filtrirt, wenn nöthig, mischt die Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser, säuert mit Essigsäure an und filtrirt den flockigen Niederschlag ab, bringt ihn noch feucht mit sehr wenig Kochsalz in Eisessig, erhitzt auf dem Wasserbade einige Zeit, sammelt die Krystalle auf einem Filter und wäscht mit Wasser gut aus. Durch dies Umkrystallisiren können einige Verunreinigungen wohl entfernt werden, dafür erhält man aber gewöhnlich ein Gemenge von Häminkrystallen mit Hämatin; auch wenn man Häminkrystalle aus getrocknetem Blute oder Blutfarbstoff darstellt, erhält man mit Hämatin verunreinigte Krystalle.

Die nach dem oben angegebenen Verfahren dargestellten Häminkrystalle bilden ein seideglänzendes Krystallpulver von der blauschwarzen Farbe und dem Metallglanze des Hämatin. Die Krystalle sind meist kaum durch die Loupe einzeln erkennbar, sind oft lang gezogene rhombische Plättchen im durchfallenden Lichte von brauner Farbe, völlig unlöslich in Wasser, in heissem Alkohol oder Aether kaum löslich, dagegen wie das Hämatin sehr leicht löslich in Alkali-

---

*) Gwosdew, Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss. 1866. Bd. 53 11. Mai.

lauge, auch den verdünntesten kohlensauren Alkalien und in säurehaltigem Alkohol. Alle diese Lösungen zeigen das Verhalten der Hämatinlösungen, enthalten auch Hämatin neben Salzsäure. Reibt man Häminkrystalle mit concentrirter Schwefelsäure zusammen, so entwickelt sich Salzsäure. Der Chlorgehalt des Hämin beträgt 5,29 pCt.; beim Auflösen desselben in verdünnten Alkalilaugen verbindet sich das Chlor mit dem Alkalimetall und kann nach Ausfällung des Hämatin mit Salpetersäure durch Silberlösung bestimmt werden; das Hämin ist also eine salzartige Verbindung von Salzsäure mit Hämatin, die in der Eisessiglösung des Blutes bei Gegenwart von Chlornatrium sich bilden kann wegen ihrer Unlöslichkeit in Eisessig. Beim Erhitzen bleiben die Krystalle unverändert bis gegen 200°, an der Luft stärker erhitzt verglimmen sie unter Entwickelung von Blausäure und Hinterlassung eines Skeletts von Eisenoxyd.

Braune und schwarze Pigmente, Melanin.

162. Mehr oder weniger dunkle braune bis ganz schwarze Pigmente finden sich in der Chorioidea und Uvea des Auges, dem Rete Malpighii vieler Thiere und des Menschen, besonders bei Negern, in den Haaren und Federn, der Haut von Reptilien und Fischen, dem Horne, Fischbein, in den Pigmentzellen an serösen Häuten bei Fröschen, Schlangen u. s. w. Fast bei allen erwachsenen Menschen findet sich mehr oder weniger reichlich ein schwarzer Farbstoff in Lungen und Bronchialdrüsen, und meist zeigt es sich bei Sectionen in denjenigen Organen als schiefergraue Färbung, welche von diesen Organen Lymphe empfangen. In melanotischen Carcinomen finden sich schwarze Pigmente oft in grossen Massen abgelagert. Für sehr viele dieser Pigmente ist der genetische Zusammenhang mit dem Hämatin und Hämoglobin unzweifelhaft aber nur aus anatomischen Gründen, für andere ist er durchaus nicht nachzuweisen und chemisch ist er in keiner Weise bis jetzt zu erklären.

Diese sämmtlichen Pigmente sind amorph, bilden kleinere oder grössere Körnchen, die oft im Zellensafte suspendirt lebhafte Molecularbewegung zeigen. Sie sind unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, ebenso in Säuren. Nur die braunen Farbstoffe lösen sich theilweise oder ganz in Kalilauge beim Kochen, die schwarzen bleiben meist ungelöst, sind aber so feinkörnig, dass es schwer ist, sie durch Filtration zu gewinnen.

Die Pigmente der Augen, der Haut, der melanotischen Carcinome der Haare, Federn, Fischbein u. s. w. werden schnell zerstört, wenn sie in Alkalilauge gelöst oder suspendirt mit Chlor behandelt werden, in den Lungen und Bronchialdrüsen von Menschen findet sich dagegen zuweilen ein Körper, der bei völlig schwarzer Farbe und Unlöslichkeit in Kalilauge von Chlor nicht angegriffen wird, also wohl Kohle ist, da man diese Eigenschaft fast an keinem anderen organischen Körper kennt. Dieser Stoff ist in sehr feinen Körnchen in diesen Geweben eingelagert, doch finden sich zuweilen in den Lungen Splitter von Holzkohle, welche durch die Respiration dahin gelangt sind und welche durch das Mikroskop gut unterschieden werden können. Concentrirte Salpetersäure greift die schwarzen Pigmente meist sehr langsam an.

Ihre Zusammensetzung wurde sehr verschieden gefunden. Die analysirten Substanzen scheinen meist sehr unrein gewesen zu sein. Nicht selten ist Eisengehalt angegeben. Im Einzelnen muss auf die Originalarbeiten verwiesen werden*).

Die Pigmente der Avertebraten sind noch wenig untersucht, unter ihnen ist die Sepie der Tintenfische analysirt und von Hosaeus**) nach Abzug der Asche von der Zusammensetzung C 44,2, H 3,3, N 9,9, O 42,5 pCt. gefunden. Nach Schwarzenbach***) enthält jedoch die Sepie neben Farbstoff noch einen Schleimstoff, und zwar in 100 Thl. trockener Substanz 4,6 pCt. neben 14,7 pCt. Asche und 80,63 pCt. Pigment. Dies letztere ist nach Schwarzenbach unlöslich in Ammoniak und wird von Chlorkalk langsam entfärbt.

Dass diese geschilderten Farbstoffe sehr verschiedener Natur sind, ergiebt sich aus ihrem verschiedenen chemischen Verhalten; die Verschiedenheit der Zusammensetzung kann ihre Ursache in der Differenz der Farbstoffe an sich oder in der Verunreinigung derselben durch andere Stoffe haben.

Hinsichtlich schwarzer Stoffe, die aus dem Harne gewonnen sind, vergl. die Farbstoffe des Harns. Die Unterscheidung der oben genannten Stoffe von den Blut- und Gallenfarbstoffen ist sehr leicht durch ihr so verschiedenes Verhalten gegen die bezeichneten Rea-

---

*) Vergl. Scherer, Ann. Chem. Pharm. Bd. 40. S. 63. Dressler, Prager Vierteljahrsschr. 1869. I. S. 59. Heintz, Arch f. pathol. Anat. Bd. 3. S. 477. Floyd, Journ. chem. Soc. I. p. 329. Hodgkinson u. Sorby, ebendas. I. p. 427.

**) Arch. d. Pharm. (2) Bd. 120. S. 27. 1861.

***) Kopp, Jahresber. über d. Fortschr. d. Chemie 1862. S. 539.

gentien; ihre Unterscheidung von Holzkohlen-, Steinkohlen-, Braunkohlenstaub wird zum Theil nur mikroskopisch möglich sein.

Gallenfarbstoffe.

Bilirubin $C_{16}H_{18}N_2O_3$.

163. Das Bilirubin, im Wesentlichen übereinstimmend mit den früher als Cholepyrrhin, Biliphäin bezeichneten Körpern, findet sich am Reichlichsten an Kalk gebunden in den Gallensteinen, in geringer Menge und im freien Zustande auch in der Galle von Menschen, Hunden, Katzen und anderen Fleischfressern. Es ist ferner das Bilirubin unzweifelhaft derjenige Körper, welcher die in alten Blutextravasaten in den verschiedenen Körpertheilen aufgefundenen mikroskopischen Hämatoidinkrystalle meistens bildet*). Es findet sich ferner Bilirubin zuweilen in Cystenflüssigkeiten, z. B. der Mamma, der Strumacysten, ist auch im icterischen Harne meist nachzuweisen, fehlt endlich wohl nie im Dünndarminhalte.

Die Abstammung des Bilirubin von Blutfarbstoff ist nach seinen physiologischen Verhältnissen kaum zu bezweifeln, nach seiner chemischen Zusammensetzung wahrscheinlich, doch ist es künstlich aus demselben noch nicht dargestellt.

Aus Gallensteinen besonders von Rindern wird das Bilirubin nach Staedeler's**) Vorschrift erhalten durch Extraction des Pulvers derselben mit Aether, so lange etwas gelöst wird, Ausziehen des Rückstandes erst mit Wasser, dann mit verdünnter Salzsäure, Lösen des ausgewaschenen Rückstandes in heissem Chloroform, Abdestilliren des Chloroform vom filtrirten Auszuge, Behandlung des Rückstandes mit absolutem Alkohol und Aether. Man löst zur Reinigung das so erhaltene Bilirubin wieder in Chloroform, verdunstet bis zur beginnenden Abscheidung des Bilirubin und fällt nun durch Weingeist. Man erhält

*) Staedeler und Holm haben sich entschieden gegen die Identität der Hämatoidinkrystalle und des Bilirubin ausgesprochen, aber gewiss mit Unrecht; freilich finden sich zuweilen in Blutextravasaten Krystalle von rhomboedrischer Form, welche das Verhalten des Lutein, vergl. § 167, zeigen, dass aber Bilirubin in Blutextravasaten oft sogar reichlich enthalten ist und auch als Hämatoidinkrystalle abgeschieden, davon kann man sich durch die von Staedeler selbst hervorgehobenen Unterscheidungsmerkmale beider Körper gut überzeugen. Hämatoidin ist sonach kein chemischer Begriff.

**) G. Staedeler, Ueber die Farbstoffe der Galle. Vierteljahrschr. d. naturf. Gesellsch. in Zürich. Bd. 8. 1863.

auf diese Weise das Bilirubin als amorphes orangefarbiges Pulver, dem Schwefelantimon ähnlich in der Farbe.

Aus der Chloroformlösung scheidet sich Bilirubin beim Verdunsten des Lösungsmittels in schöner ausgebildeten rhombischen Tafeln und Prismen ab, wenn die Lösung Cholesterin u. s. w. enthält, als wenn das Bilirubin bereits gereinigt ist. Es ist völlig unlöslich in Wasser, sehr wenig löslich in Aether, etwas löslicher in Alkohol, leichter in Chloroform, besonders beim Erwärmen, weniger in Benzol oder Schwefelkohlenstoff, Amylalkohol, Glycerin; alle diese Lösungen haben gelbe bis bräunlichrothe Farbe. In einer 1,5 Cm. dicken Schicht ist noch bei 500,000facher Verdünnung gelbliche Färbung zu erkennen. In alkalischen Flüssigkeiten löst es sich leicht auf und wird, so weit es nicht zersetzt ist, durch Salzsäure aus diesen Lösungen unverändert wieder abgeschieden. Bilirubin verbindet sich mit Basen; die Natronverbindung kann durch concentrirte Natronlauge aus der concentrirten wässerigen Lösung ausgefällt werden; die Kalkverbindung wird durch Fällung ammoniakalischer Bilirubinlösung mit Chlorcalcium als rostfarbiger flockiger Niederschlag erhalten, der über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet metallisch glänzend dunkelgrün erscheint, zerrieben ein dunkelbraunes Pulver darstellt; er besteht aus $(C_{16}H_{17}N_2O_3)_2Ca$. Diese Verbindung ist unlölich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform. Da auch die Alkaliverbindungen in Chloroform unlöslich sind, kann man einer Chloroformlösung das Bilirubin durch verdünnte Alkalilauge entziehen. Ebenso wie durch Chlorcalcium kann man auch durch Chlorbarium, Bleizucker, Bleiessig und salpetersaures Silber eine ammoniakalische Bilirubinlösung fällen; die so erhaltene Silberverbindung bildet bräunlichviolette Flocken. Auch in der Siedhitze wird Silberoxyd durch Bilirubin nicht reducirt.

Ausser diesen Ergebnissen der Untersuchungen von Staedeler sind noch von Maly*) und von Thudichum**) solche veröffentlicht, von denen die Resultate Maly's Bestätigung der Untersuchungen Staedeler's geben. Meine eignen Analysen lassen gleichfalls keinen Zweifel an der Richtigkeit der Formel von Staedeler und von Maly.

Vermischt man eine alkalische Lösung von Bilirubin mit nicht zu verdünnter Salpetersäure, die ein wenig Untersalpetersäure enthält (wie dies gewöhnlich der Fall ist), so geht die Farbe der Flüssigkeit

*) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 104. S. 28. 1868.

**) Ebendas. Bd. 104. S. 193. 1868.

zunächst in Grün, dann in Blau, Violett, Roth und endlich in Gelb über. Diese Reaction ist so empfindlich, dass sie bis zur 70000 bis 80000fachen Verdünnung noch erkennbar ist.

In kalter concentrirter Schwefelsäure löst sich Bilirubin zu einer bräunlichen Flüssigkeit, trägt man diese Lösung in Wasser ein, so erhält man dunkelgrüne Flocken, die sich in Weingeist mit prächtig violetter Farbe lösen. Durch Einwirkung von rauchender Salzsäure bilden sich aus Bilirubin beim Kochen gummiartige braune Körper.

Wenn man Bilirubin in alkalischer Lösung auf flachen Tellern der atmosphärischen Luft aussetzt, so wird die Lösung grün durch Bildung von Biliverdin. Durch Einwirkung von Natriumamalgam bildet sich Hydrobilirubin, ebenso wirken Zinn und Salzsäure.

Biliverdin.

164. Nach Staedeler hat Biliverdin die Zusammensetzung $C_{16}H_{20}N_2O_5$, nach Maly dagegen $C_{16}H_{18}N_2O_4$, nach Staedeler entsteht es aus dem Bilirubin durch Oxydation und gleichzeitige Aufnahme von Wasser, Maly*) leugnet letztere nach dem Ergebnisse seiner Analysen. Nach Thudichum bildet sich aus dem Bilirubin bei seiner Oxydation Kohlensäure vom gleichen Volumen des aufgenommenen Sauerstoffs, er giebt dem Biliverdin die Formel $C_8H_9NO_2$.

Biliverdin findet sich reichlich in den Rändern der Placenta des Hundes, in der Galle vieler Thiere; im icterischen Harne, im Darminhalte, im Erbrochenen mag es vorkommen, ist jedoch nicht entschieden darin nachgewiesen.

Um es aus der Placenta des Hundes zu gewinnen, wäscht man diese zunächst mit Wasser gut aus, extrahirt dann mit einer Mischung von Chloroform und Alkohol, destillirt das Filtrat, zieht den Rückstand mit kaltem Alkohol aus, filtrirt und verdunstet bei mässiger Wärme zur Trockne.

Aus Bilirubin erhält man Biliverdin nach Staedeler, indem man die alkalische Lösung des ersteren in flachen Gefässen längere Zeit an der Luft stehen lässt, dann mit Salzsäure fällt, mit Wasser wäscht, in Weingeist löst, und die filtrirte alkoholische Lösung verdunstet. Nach Maly erhält man es auch durch Behandlung der Chloroformlösung des Bilirubin mit Eisessig oder durch vorsichtiges

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 175. S. 76.

Eintragen von Bleihyperoxyd in alkalische Bilirubinlösung, bis eine Probe durch Säure grün gefällt wird; man übersättigt schwach mit Essigsäure, wäscht das ausgefällte Biliverdinblei, zerlegt es durch schwefelsäurehaltigen Alkohol und fällt dann das Biliverdin durch Wasser.

Das Biliverdin ist ein amorpher (beim Verdampfen einer Lösung in Eisessig erhält man unvollkommene grün gefärbte rhombische Plättchen mit abgestumpften Ecken) dunkelgrüner, in Wasser, Aether, Chloroform unlöslicher, in Alkohol leicht löslicher Körper. In selbst sehr verdünnten Alkalilaugen wird es gelöst, durch Kalk-, Baryt-, Bleisalze aus dieser Lösung gefällt, ebenso durch Ansäuern der Lösungen.

Durch Salpetersäure wird das Biliverdin in der alkalischen Lösung ebenso verändert wie das Bilirubin; es geht die Farbe der Lösung in Blau, Violett, Roth, endlich in Gelb über.

In concentrirter Schwefelsäure löst sich Biliverdin mit grüner Farbe und wird durch Wasser wieder unverändert abgeschieden.

Durch schweflige Säure wird alkalische Lösung von Biliverdin besonders schnell beim Erwärmen gelb gefärbt, und diese Lösung verhält sich gegen Salpetersäure der Bilirubinlösung sehr ähnlich. Durch Natriumamalgam oder Zinn und Salzsäure wird aus Biliverdin Hydrobilirubin gebildet.

Es giebt unzweifelhaft noch manche andere Gallenfarbstoffe als die beschriebenen, aber sie sind ungenügend bekannt. Von Scherer*) und Staedeler**) sind solche kurz beschrieben. Die von Staedeler Bilifuscin und Bilihumn genannten Farbstoffe sind nicht näher bekannt, Brücke's***) Bilifuscin ist verschieden von Staedeler's Bilifuscin, aber gleichfalls noch nicht zuverlässig rein gewonnen. Staedeler's Biliprasin ist identisch mit Biliverdin.

Leider zeigen die beschriebenen Gallenfarbstoffe keine so charakteristischen Einwirkungen auf das Licht, dass die Spectraluntersuchung zu ihrer Unterscheidung wesentlich behülflich sein könnte; dagegen werden sowohl durch Salpetersäure als auch durch Salzsäure aus mehreren Gallenfarbstoffen Körper gebildet welche sich bei der Spectraluntersuchung durch gut erkennbare Absorptionsstreifen unterscheiden lassen.

Frische Ochsengalle hat eine grüne Farbe und zeigt im Spectrum bei ziemlich bedeutender Dicke der Flüssigkeit einen Absorptionsstreif zwischen D und E näher an D. Lässt man die Ochsengalle stehen oder nach ihrem Eindampfen den Alkoholauszug des Rückstandes derselben, so erscheinen sie in dünnen Schichten

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 53. S. 377.

**) Staedeler a. a. O. vergl. § 163.

***) Brücke, Allgem. Wien. Zeitung. 1859. S. 335. Simony, Wien. Acad. Sitzungsber. Bd. 73. III. 18. Mai 1876.

bald grün, in dickeren roth und bei der Spectraluntersuchung bei genügender Verdünnung treten 4 Absorptionsstreifen auf, von denen der erste dicht vor C, der zweite nahe vor D, der dritte nahe hinter D, der vierte nahe vor E erscheint. Der zweite und besonders der dritte sind sehr dunkle, gut contourirte Streifen; im Uebrigen ist über diesen Farbstoff, der sich auch in der Schafgalle findet, zwar viel untersucht, aber wenig Bestimmtes ermittelt. Man erhält nämlich diesen Körper auch durch Oxydation von Bilirubin, Biliverdin oder Bilifuscin mit Salpetersäure oder Bromwasser, indem man auf die Chloroformlösung dieser Farbstoffe einwirkt, auch durch Einwirkung von Jod auf alkalischwässerige Lösung der Gallenpigmente wird er gewonnen. Der Farbstoff erscheint grün in alkalischer, blau oder violett in saurer Lösung. Stokvis*) hat ihn Choleverdin, Heynsius und Campell**) Bilicyanin genannt Die Spectralerscheinungen waren vom Verf. bereits in den früheren Auflagen dieses Handbuchs, dann auch von Jaffé***) beschrieben. Auch Bogomoloff†) schildert sie.

Das Endproduct der Einwirkung der Oxydationsmittel besonders der rauchenden Salpetersäure auf Bilirubin und Biliverdin ist von Maly††) Choletelin genannt und enthält nach seinen Bestimmungen im Mittel C 55,5, H 5,3 pCt.

Nachweis und Trennung der Gallenfarbstoffe.

165. Enthält eine Flüssigkeit neben Gallenfarbstoffen keine bedeutenden Quantitäten anderer Farbstoffe, so kann man Bilirubin und Biliverdin sofort mit Salpetersäure, die etwas salpetrige Säure enthält, nachweisen, indem man in einem Cylinderglas entweder die Salpetersäure bei schräger Haltung unter eine Portion der zu prüfenden Flüssigkeit fliessen lässt, oder zuerst die Salpetersäuren eingiesst und die zu prüfende Flüssigkeit darüberfliessen lässt, so dass sie sich nicht zu sehr an der Grenze mischen. Es bildet sich dann die Farbenskala in der Reihenfolge aus, dass unten zunächst an der Salpetersäure gelbrothe, darüber rothe, dann violette, darüber blaue und zuoberst grüne Färbung erkennbar wird, wenn Gallenfarbstoffe vorhanden sind. Mässiger Gehalt an Urobilin im Harne oder von Lutein in Blutserum stören diese Reaction nicht erheblich, wohl aber die dunklen Färbungen von Methämoglobin oder Hämatin.

Huppert†††) hat mit Recht für den Harn die Fällung mit Kalk-

*) Maandblad v. d. Genootsch. ter bevord van Nat. gen. etc. Amsterdam 1870 S. 10.

**) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 4. S. 497.

***) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1868. No. 16.

†) Ebendas. 1869. S. 529..

††) Sitzungsber. d. Wien. Akad. Bd. 59. Centralbl. f. d. med. Wiss. 1873. No. 21.

†††) Arch. f. Heilk. Bd. 8. S. 351 u. 476.

milch empfohlen. Man soll den Niederschlag abfiltriren und im Reagensglas mit Alkohol und Schwefelsäure behandeln, der Alkohol über dem Gypsniederschlag nimmt durch gelöste Gallenfarbstoffe besonders beim Erhitzen gelbgrüne Färbung an.

Der Kalkfällung kann man sich mit grossem Vortheil zur Trennung und zum Nachweis von Gallenfarbstoffen bei Anwesenheit von Blutfarbstoff, Methämoglobin, Urobilin u. s. w. bedienen. Man fällt die Flüssigkeit mit einer mässigen Quantität Kalkmilch unter gutem Schütteln, leitet dann sogleich um die Zersetzung von Blutfarbstoff oder Methämoglobin durch den Aetzkalk möglichst zu beschränken, einen Strom CO_2 ein, bis der Aetzkalk in Carbonat verwandelt ist, filtrirt und wäscht den Niederschlag mit Wasser. Wünscht man nur den Nachweis der Gallenfarbstoffe zu führen, so lässt man zum Kalkniederschlag auf dem Filter mässig verdünnte salpetrige Säure enthaltende Salpetersäure fliessen und findet an der Grenze ihrer Einwirkung auf den Kalkniederschlag die oben erwähnte Farbenskala, will man dagegen das Bilirubin abtrennen, so bringt man den Kalkniederschlag in Alkohol, fügt Chloroform hinzu, dann Essigsäure bis zur Uebersättigung des Kalks, filtrirt, versetzt das Filtrat mit Wasser zur Ausfällung des Chloroform, trennt die Chloroformlösung durch Abgiessen und Filtriren durch trocknes Filter und destillirt das Chloroform ab; das Bilirubin bleibt hierbei zurück und kann entweder in Wasser mit einem Tropfen Natronlauge oder in Chloroform gelöst mit Salpetersäure, die salpetrige Säure enthält, nachgewiesen werden. Man kann vorher das Bilirubin mit etwas Alkohol und Aether waschen, trocknen und wägen. Quantitativ genau ist diese Bestimmung nicht, sie giebt meist viel zu niedrige Werthe, weil die Kalkfällung nicht vollkommen ist, auch bei der weiteren Behandlung etwas Bilirubin zersetzt wird. Die ganze Procedur muss so schnell als möglich ausgeführt werden. Hämatin wird aus Flüssigkeiten durch den Kalk wie Bilirubin gefällt und gelangt mit letzterem in die Chloroformlösung. Hämatin findet sich aber im Organismus nicht, höchstens im Magen und Darmcanale.

Farbstoffe des Harns.

166. Der Harn von Menschen, Säugethieren und nackten Amphibien hat stets eine mehr oder weniger dunkle gelbe bis braune Farbe, am dunkelsten braun bei Pferden, Rindern und andern pflanzenfressenden Säugern, hellgelb bei Fleischfressern. Es ist nicht bekannt,

ob einer oder mehrere Farbstoffe an dieser Färbung betheiligt sind, und die zahlreichen Versuche, welche angestellt sind, um normalen Farbstoff aus dem Harn unverändert zu gewinnen, sind bis jetzt stets ohne Resultat geblieben. Es sprechen einige Thatsachen dafür, dass ein gelber Farbstoff im normalen Harn eine organische Eisenverbindung ist, welche durch Schwefelammonium nicht zerlegt wird. Aus zahlreichen, aber durchaus nicht allen normalen und vielen pathologischen Harnen kann Urobilin abgeschieden und seine Anwesenheit im Harn direct durch spetroskopische Untersuchung nachgewiesen werden. Alle Urine, welche reich an Phenol-, Kresol-, Brenzcatechin-, Indoxylschwefelsäure sind, zeigen eine bräunliche, oft sehr dunkle bis fast schwarze Färbung, welche durch Zersetzungsproducte (vielleicht zum Theil humussaure Verbindungen) dieser aromatischen Körper nicht durch letztere an sich farblosen Stoffe hervorgerufen wird. Rhabarber, Sennesblätter, Santonin in den Magen eingeführt, lassen im Harne gelbe Farbstoffe erscheinen, welche sich mit Alkalien schön roth färben.

Urobilin.

Urobilin findet sich häufig im normalen menschlichen Harn, gewöhnlich, aber nicht stets im Harn von Fieberkranken, färbt vielfach in solchen Urinen Niederschläge von harnsauren Salzen ziegel- bis purpurroth.

Zu seiner Darstellung wird der Harn, wie es zuerst von Méhu*) empfohlen ist, nach Ansäuern mit 2 Grm. Schwefelsäure für 1 Liter Harn mit Ammoniumsulfat gesättigt und filtrirt, das Urobilin auf dem Filter gesammelt und mit gesättigter Lösung von Ammoniumsulfat gewaschen, dann in Alkohol gelöst. Das Urobilin löst sich langsam und nicht vollständig. Die abfiltrirte alkoholische Lösung wird mit Chloroform gemischt und ein der alkoholischen Lösung gleiches Volumen Wasser hinzugefügt, gut umgeschüttelt und zur Abscheidung der Chloroformlösung stehen gelassen. Mittelst Scheidetrichter die Chloroformlösung klar abgetrennt, mit dem doppelten Volumen Wasser gewaschen, dann die klare Chloroformlösung aus dem Scheidetrichter durch trocknes doppeltes Papierfilter in einen Kolben filtrirt, das Chloroform abdestillirt. Der Rückstand wird mit Aether gewaschen oder aus concentrirter Chloroformlösung mit Aether gefällt, welcher

*) Journ. de pharm. et de chim. Août 1878.

nur sehr wenig Farbstoff löst. Der Rückstand wieder in Chloroform gelöst, filtrirt und bei mässiger Temperatur verdunstet. Es bleibt bei dieser Behandlung ein Farbstoff zurück, der vom Urobilin verschieden und in Aether oder Chloroform unlöslich ist, von Alkohol mit brauner Farbe leicht gelöst wird. Die Fällung des Urobilin aus dem Harne geschieht auch durch Ammoniumsulfat allein, ohne Anwendung der Schwefelsäure; dies Verfahren ist sogar wegen der grossen Zersetzlichkeit des Urobilin vorzuziehen.

Das auf dem angegebenen Wege dargestellte Urobilin zeigt im durchfallenden Lichte in dünnen Schichten rosenrothe, in dickeren bräunlichpurpurrothe Färbung, im auffallenden Lichte lebhaften gelbgrünen Metallglanz, ähnlich den Rosanilinsalzen, aber im durchfallenden Lichte bei Weitem nicht so schön gefärbt. Es ist bis jetzt nur amorph erhalten, löst sich wenig in Wasser oder Aether, leicht in Alkohol oder Chloroform, auch in wässerigen Alkalilösungen oder Ammoniak, erscheint in seinen neutralen Lösungen stets roth, aber in alkalischen Lösungen mehr gelb, in sauren rosen- bis bräunlichpurpurroth. Die Lösungen verändern an der Luft mehr und mehr ihre Färbung ins Bräunliche unter allmälig fortschreitender Zersetzung des Farbstoffs. Mit der Lösung des Farbstoffs getränkte Papierfilter oder baumwollene, wollene Zeuge geben beim Waschen mit Wasser, Alkohol, Chloroform den Farbstoff nur unvollkommen wieder ab. Durch basisch essigsaures Blei wird der Farbstoff gefällt, theilweise durch Chlorzink oder Zinksulfat und Ammoniak. Die ammoniakalische Lösung zeigt auf Zusatz von etwas Zinksalz eine sehr kräftige, noch bei sehr starker Verdünnung erkennbare grüne Fluorescenz. Im durchfallenden Lichte spectroskopisch untersucht, zeigen sehr verdünnte saure Lösungen einen Absorptionsstreif zwischen den Linien b und F, etwas näher an letzterer Linie, in alkalischen Lösungen ist der Streif schwächer und mehr nach der Liniengruppe b hingerückt. Er ist stärker in der Aetzkali- oder Aetznatronlösung als in Ammoniak, am stärksten in der stark fluorescirenden zinkhaltigen Lösung.

Jaffé*), welcher das Urobilin zuerst untersucht und benannt hat, erhielt aus der Galle einen Körper von gleicher Eigenschaft und Maly**) stellte durch Einwirkung von Natriumamalgam auf Bilirubin oder Biliverdin einen Farbstoff dar, $C_{32}H_{40}N_4O_7$, den er Hydrobili-

---

*) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 47. S. 405.

**) Ann. Chem. Pharm. Bd. 163. S. 77.

rubin nannte und dessen Eigenschaften spectroskopisch wie chemisch, mit dem Urobilin Jaffe's übereinstimmte. Es ist kaum zu zweifeln, dass beide identisch sind. Auch in dem Inhalt des Dickdarm und untern Theil des Dünndarms sowie in den Fäces findet sich dieser Farbstoff von der Geburt an; im Meconium findet er sich nicht. Das reichliche Auftreten des Urobilin im Harne bei Lebercirrhose und andern icterischen Erkrankungen (seltener bei catarrhalischem Icterus) spricht für die Entstehung aus Gallenfarbstoff.

Zum Nachweis des Urobilin im Harne dient zunächst die spectroscopische Prüfung desselben nach Zusatz von einigen Tropfen Schwefelsäure. Salkowski*) empfiehlt 100 CC. Harn mit 50 CC. reinem Aether sanft durchzuschütteln, den Aether abzugiessen und zu verdunsten, den Rückstand in wenig Alkohol zu lösen und die rosenrothe Lösung spectroscopisch und auf grüne Fluorescenz nach Zusatz von Zinkchlorid und Ammoniak zu prüfen. Dieses Verfahren verdient besonders Anwendung, wenn andere dunkle Farbstoffe die directe Prüfung des Urin selbst behindern. Wegen der geringen Löslichkeit des Urobilin in Aether ist Chloroform dem Aether vorzuziehen. Zur genaueren Prüfung ist stets das oben zur Darstellung angegebene Verfahren zu wählen. Aus Darminhalt oder Fäces extrahirt man mit Alkohol und einigen Tropfen Schwefelsäure, filtrirt, fügt Chloroform hinzu, dann Wasser und untersucht die abgeschiedene Chloroformlösung auf Absorptionsstreif und Fluorescenz in angegebener Weise.

Die älteren Untersuchungen über Harnfarbstoffe von Scherer, von Harley, Tichborne, Heller haben nur noch geschichtlichen Werth.

Baumstark**) hat neuerdings noch in einem Falle von Lepra zwei Harnfarbstoffe gefunden, von denen der eine, Ururubrohämatin genannt ($C_{68}H_{94}N_8Fe_2O_{26}$), in saurer Lösung einen Absorptionsstreifen vor der Linie D im Spectrum und einen zweiten hinter D zeigte, sich weder in Wasser, noch in Alkohol, Aether, Chloroform löste, wohl aber mit Alkalien eine schön braunrothe nicht dichroitische Lösung gab. Der andere Farbstoff, Urofuscohämatin genannt, $C_{68}H_{106}N_8O_{26}$, löslich in Alkalien, mit brauner Farbe ohne Dichroismus und ohne scharfe optische Charaktere. Beide Farbstoffe scheinen in naher Beziehung zum Hämatin zu stehen.

Blaue Farbstoffe, krystallisirte oder amorphe, welche als Nieder-

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 134.

**) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1874. VII. S. 1170.

schläge im Harne häufig beobachtet wurden, sind ohne Zweifel stets Indigo gewesen.

Einen Körper, welcher neben Urobilin die Harnsäuresedimente bei Digestionsstörungen, Herz-, Lungen- und besonders rheumatischen Affectionen oft lebhaft ziegelroth bis rosenroth färbt, hatte Prout theils für Murexid gehalten, theils als rosige Säure bezeichnet; Golding Bird hat diesen Körper Purpurin, Heller Uroerythrin genannt, wenigstens scheint es, dass die genannten Autoren denselben Farbstoff mit diesen Namen bezeichnen. Dieser Farbstoff wird durch verdünnte Säuren nicht angegriffen, durch Natronlauge grün gefärbt, durch Alkalien leicht gelöst, durch essigsaures Blei aus seinen Lösungen gefällt.

Ob die von Thudichum*) untersuchten und beschriebenen amorphen Stoffe, Uromelanin $C_{36}H_{43}N_7O_{10}$, Paramelanin, Omicholin, Omicholinsäure u. s. w. reine Körper und wirkliche Zersetzungsproducte vom Harnfarbstoff sind, bedarf noch weiterer Untersuchung.

Lutein.

167. Der Farbstoff des Eidotter und der Corpora lutea wurde von Holm und Staedeler**) als identisch durch seine Reactionen erwiesen, aus letzteren auch krystallisirt erhalten, aber noch nicht in der zur Analyse hinreichenden Quantität rein dargestellt. Holm und Staedeler identificiren ferner mit diesem Körper die in alten Blutextravasaten so häufigen Hämatoidinkrystalle und nennen daher diesen gelben Farbstoff Hämatoidin. Da einerseits diese Krystalle nachweisbar meistens aus Bilirubin (vergl. § 163) bestehen, so scheint dieser Name nicht passend, und seitdem Thudichum***) wegen des Spectralverhaltens es für wahrscheinlich erklärt hat, dass die gelben Farbstoffe vieler Pflanzen, z. B. in den Maiskörnern, vielen Staubfäden und Blüthen identisch seien mit jenem Farbstoffe, möchte der von Thudichum gewählte Name Lutein vorläufig vorzuziehen sein. Weitere Untersuchungen müssen über diese Identität oder Verschiedenheit dieser Körper entscheiden; ist aber das Lutein in verschiedenen Pflanzentheilen vorhanden, so möchte die von Staedeler versuchte Ab-

*) Thudichum, Journ. f. prakt. Chem. Bd. 104. S. 257. 1868.
**) Journ. f. prakt. Chem. 1867. Bd. 100. S. 142.
***) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1869. No. 1.

leitung dieses Körpers vom Blutfarbstoff mindestens sehr problematisch erscheinen.

Nach Staedeler und Holm gewinnt man das Lutein aus den Corpora lutea der Kuh durch Extrahiren der fein zerkleinerten gelben Massen mit Chloroform, Verdunstenlassen der orangefarbigen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur und Waschen der in dem zurückbleibenden Fette enthaltenen Krystalle mit Weingeist und mit wenig Aether. Die Krystalle des Lutein sind schwach pleochromatisch, im gereinigten Zustande in der Färbung der Chromsäure ähnlich. Sie sind stets mikroskopische, spitze Rhomboëder, meist dünne rhombische Plättchen. In Wasser ist Lutein unlöslich, wenig löslich in Eiweisslösungen, leicht löslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol, fetten Oelen. Da man noch keine Methode der Trennung des Lutein von den Fetten kennt, ist es noch nicht aus Eidotter, Blutserum u. s. w. rein dargestellt; in wässerigen Seifenlösungen löst es sich leicht und fällt beim Zusatz einer Säure vollständig, beim Zusatz von Chlorcalciumlösung grösstentheils mit den fetten Säuren zusammen nieder. Durch essigsaures Quecksilberoxyd wird es vollständig gefällt. Durch Sonnenlicht wird Lutein schnell unter Entfärbung zersetzt, durch Salpetersäure blau gefärbt und bei weiterer Einwirkung entfärbt. Durch dies Verhalten gegen Salpetersäure ist das Lutein von den Gallenfarbstoffen und anderen gelben oder orangefarbigen Pigmenten gut zu unterscheiden, da es mit Salpetersäure übergossen erst grün, dann blau, zuletzt gelb oder farblos wird. Auch andere stärkere Säuren, selbst starke Essigsäure färben es grün oder blau. Kochen mit mässig verdünnten Alkalilaugen scheint es nicht zu verändern.

Die Lösungen des Lutein absorbiren sehr kräftig blaues und violettes Licht; verdünnt man eine Luteinlösung mit Alkohol oder Aether mehr und mehr, während man sie mit dem Spectroskope untersucht, so zeigen sich bald zwei deutliche Absorptionsstreifen, von denen der eine die Linie F in sich fasst, aber weiter nach G als nach b hinreicht, der zweite ungefähr die Mitte zwischen F und G einnimmt. Wie Thudichum fand, variiren die Absorptionsstreifen hinsichtlich ihrer Lage im Spectrum etwas je nach dem Lösungsmittel.

Als Unterschied von Bilirubin kann es dienen, dass Lutein der Chloroformlösung durch verdünnte Aetzalkalilösung in Wasser nicht entzogen wird, während Bilirubin die Chloroformlösung verlässt.

Durch eine Untersuchung der Eier von Maja squinado (Seespinne)

glaubt Maly*) nachgewiesen zu haben, dass das Lutein eigentlich ein Gemenge von zwei Farbstoffen, die er Vitellolutein und Vitellorubin nennt, darstelle. Da jedoch diese Farbstoffe weder einigermassen isolirt, noch spectroskopisch als verschieden nachgewiesen sind, vielmehr aus der ganzen Darstellungsweise hervorgeht, dass sie noch mit fetten Säuren oder deren Verbindungen verunreinigt waren, Analysen auch nicht angestellt sind, nur Stickstoff in den Extracten nicht gefunden ist, können diese Angaben an der Sachlage nichts Wesentliches ändern. Es sind verschiedene ältere Angaben vorhanden, welche einen rothen neben einem gelben Farbstoff in den Eidottern wahrscheinlich machen, aber so sehr auch dies aller Wahrscheinlichkeit nach der Fall ist, konnte doch eine Isolirung noch nicht erreicht werden.

Ueber die Farbstoffe der Netzhaut im Auge sind von Kühne und mehreren seiner Schüler Untersuchungen beschrieben, welche die Lösungsverhältnisse und die wenig charakteristischen Lichtabsorptionen im Wesentlichen betreffen. Es kann hier nur auf die Originalabhandlungen verwiesen werden**).

Blauer Farbstoff des Eiters, Pyocyanin.

168. Eine Blaufärbung des Eiters in Wunden ist häufig beobachtet. Sie rührt nach Luecke***) von der Gegenwart einer eigenthümlichen Vibrionenart, ähnlich Vibrio lineola Ehrenb. her, die sich von einer Eiterfläche auf die andere verpflanzen lässt. Zur Darstellung des von Fordos Pyocyanin genannten Farbstoffes aus blauem Eiter empfiehlt Luecke: Die blauen Compressen, Charpie u. s. w. 24 Stunden in dünnem Weingeist zu maceriren, die meist grün gefärbte Flüssigkeit dann zu filtriren und den Alkohol schnell grösstentheils abzudestilliren. Der Rückstand noch warm filtrirt giebt ein klares grünes Filtrat; dies wird im Kolben mit wenig Chloroform geschüttelt, welches mit verschiedenen anderen Körpern auch den blauen Farbstoff aufnimmt. Man versetzt die klar abgehobene Chloroformlösung unter Umrühren tropfenweise mit sehr verdünnter Schwefelsäure, bis sie völlig roth erscheint. Es scheidet sich dann eine schöne rothe wässerige

---

*) Monatshefte f. Chem Bd. 2. S. 18. Jahresber. f. Thierchemie. 1881. S. 126.

**) W. Kühne, Untersuch. a. d. physiol. Institut d. Univers. Heidelberg. Bd. 1—4 zahlreiche Abhandlungen. L. Hermann, Handb. d. Physiologie. Bd. 3. Seite 235.

***) Langenbeck, Arch. f. Chirurgie. III. S. 135. Hier findet sich auch die übrige bezügliche Literatur.

Schicht über dem Chloroform ab, die man abhebt, im Becherglase auf dem Wasserbade erwärmt und dann Aetzbarytlösung so lange zusetzt, bis die Flüssigkeit wieder blau erscheint, filtrirt dann, wäscht mit Wasser. Die vereinigten Filtrate werden mit wenig Chloroform geschüttelt und die klar abgetrennte blaue Chloroformlösung an der Luft verdunsten gelassen. Pyocyanin zeigt keine deutlichen Absorptionsstreifen, aber schwefelsaures Pyocyanin absorbirt sehr stark das Licht von D bis F im Spectrum.

Das hierbei erhaltene Pyocyanin krystallisirt in mikroskopischen Nadeln oder durch rechtwinkelige Kanten begrenzten Blättchen. Die Krystalle sind luftbeständig, schmelzen beim Erhitzen und zersetzen sich. Sie lösen sich leicht in Chloroform, Alkohol, Wasser, schwerer in Aether. Durch Säuren wird das Pyocyanin roth gefärbt wie Lackmus, durch Alkalien wieder blau. Aus der alkoholischen oder wässerigen Lösung wird es durch Alaun oder essigsaures Bleioxyd nicht gefällt. Durch Chlor, rauchende Salpetersäure, Terpentinöl wird es zerstört. Starke Säuren verändern es beim Erwärmen. In verdünnten Säuren gelöst ist es ziemlich beständig, während es besonders in unreiner wässeriger oder alkoholischer Lösung, auch unreinem Chloroform sich bald zerlegt. Es geht leicht über in einen Pyoxanthose von Fordos*) genannten gelben Farbstoff, der in Wasser wenig, in Aether, Chloroform, Alkohol leicht löslich ist und in mikroskopischen Nadeln krystallisirt. Schüttelt man die Chloroformlösung mit wässriger Alkalilösung, so geht der Farbstoff in diese über unter Violettfärbung**).

Tetronerythrin.

Auerhähne, Hasel- und Birkhähne, Fasanen sind durch eine eigenthümliche stark rothgefärbte runzlige, wenig oder gar nicht behaarte Partie in der Umgebung ihrer Augen „die Rosen" ausgezeichnet, in denen ein eigenthümlicher orangerother, leicht veränderlicher Farbstoff enthalten ist, der durch Alkohol, Chloroform, Aether, Schwefelkohlenstoff u. s. w. extrahirt werden kann. Wurm***) hat zuerst die Untersuchung dieses Farbstoffs vorgenommen, ihn aber nicht krystallisirt erhalten. Verf. war bei der Untersuchung einer grossen Anzahl der Rosen, welche er Dr. Wurm's Freundlichkeit verdankte, nicht glücklicher. Neben dem Farbstoff wurden durch die genannten Lösungsmittel Fette, Cholesterin und Le-

*) Compt. rend. T. 56. S. 1128.
**) Girard, Zeitschr. f. Chirurgie. Bd. 7. S. 389.
***) Zeitschr. f. wiss. Zoologie. 1871. p. 535.

cithin extrahirt und es gelang nicht, den Farbstoff von diesen Körpern zu trennen. Bei der Verseifung durch Kochen mit Barytlösung wird der Farbstoff nicht zerstört, doch bleibt derselbe in der Seife, auch wenn die gekochte Seife nachher mit Aether behandelt wird. Am Lichte verblassen die Farbstofflösungen sehr schnell und sind äusserst empfindlich gegen Ozon, so dass ozonhaltiger Aether oder Alkohol den Farbstoff bald entfärben.

Bei der Spectraluntersuchung zeigen die Lösungen des Tetronerythrin starke Absorption von violettem und blauem Licht, auch die Gegend des Blaugrün wird stark absorbirt, ein definirbares Absorptionsband wurde nicht beobachtet. Säuren verändern den Farbstoff so wenig als Alkalien, gefärbte Niederschläge werden mit schweren Metallsalzen nicht erhalten, wenn nicht der Farbstoff durch Fette u. s. w. niedergerissen wird. Der Farbstoff ist weder eisen- noch kupferhaltig.

Einen mit dem Tetronerythrin identischen oder ihm sehr ähnlichen Farbstoff fand Krukenberg*) in mehreren Arten von Schwämmen.

Turacein ist ein Farbstoff von Church genannt, den er aus den Flügelfedern von vier Species von Turaco mit verdünnten Alkalien extrahirt und mit Säuren aus dieser Lösung gefällt hat. Dieser Farbstoff ist nach Church durch zwei deutliche Absorptionsstreifen im Grün und Gelb und durch den Gehalt von 5,9 pCt. Kupfer ausgezeichnet**).

Albuminstoffe oder Proteïnkörper.

169. Die Albuminstoffe in den Pflanzentheilen meist nur in geringen Mengen enthalten, bilden bei Menschen und Thieren in Blut, Muskeln, Nerven, Drüsen und andern Organen und Flüssigkeiten die Hauptmasse der festen Stoffe. Frei oder nahezu frei von Albuminstoffen sind im normalen Zustande Harn, Schweiss, Galle, Thränen, auch andere wirkliche Secrete enthalten selten mehr als Spuren davon.

In der procentischen Zusammensetzung unterscheiden sich die Albuminstoffe zum Theil nicht unerheblich, doch liegen die gefundenen Werthe innerhalb der Grenzen

C	50	bis	55
H	6,9	»	7.3
N	15	»	18
O	20	»	23,5
S	0.3	»	2,0

*) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1879. S. 705.

**) Zahlreiche Angaben über Farbstoffe von Avertebraten vergl. in Moseley, London. Med. Record. 1877. p. 58. de Negri, Gaz. chim italian. Vol. 7. fasc. 4. p 219., Vol. 5. fasc 8. p 437. A. e G. de Negri, Studi spettroscopici e chimici sulle materie coloranti di alcuni moluschi del mare Ligure etc. Atti della R. Universitá di Genova. Vol 3. Genova 1875.

Krukenberg, Vergleichende physiol. Studien. 5. Abth Heidelberg 1881.

Bei den gewöhnlichen Darstellungsweisen werden die Proteinkörper als amorphe Niederschläge oder Lösungsrückstände gewonnen, doch ist es auch auf verschiedenen Wegen geglückt bestimmte Albuminstoffe in Krystallen künstlich darzustellen*). Dies betrifft aber hauptsächlich pflanzliche Albuminstoffe.

Die Moleculargewichte der Albuminstoffe sind noch nicht mit genügender Sicherheit ermittelt, weil sie theils überhaupt keine Verbindungen ohne Zersetzung einzugehen scheinen, theils in sehr verschiedenen Verhältnissen mit Säuren oder Metallen in Verbindung treten.

Nur wenige Albuminstoffe sind reichlich in Wasser löslich, alle lösen sich in Aetzkalilaugen, zum Theil unter Zersetzung, ebenso in concentrirten Mineralsäuren, schwerer oder gar nicht in Essigsäure. Alle sind unlöslich in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Petroläther; in Alkohol lösen sich wenige in geringer Menge und dann in heissem Alkohol reichlicher als in kaltem.

Aus neutralen oder sauren Lösungen werden alle Albuminstoffe gefällt durch basisch essigsaures Blei bei Vermeidung eines Ueberschusses oder Zusatz von Ammoniak.

Aus mässig salzsaurer Lösung werden alle Albuminstoffe gefällt, 1) durch Phosphorwolframsäure, 2) durch Jodquecksilberjodkalium, 3) durch Gerbsäure.

Aus schwach alkalischer Lösung werden alle Albuminstoffe gefällt durch Quecksilberchlorid oder andere Quecksilberoxydsalze. Keine dieser Fällungen ist für die Albuminstoffe charakteristisch.

Zersetzungen der Albuminstoffe.

Beim Kochen mit Säuren, z. B. mit rauchender Salzsäure (zweckmässig ist der Zusatz von Zinnchlorür) werden alle Albuminstoffe zerlegt**) in Ammoniak, Kohlensäure, Leucin, Tyrosin, Asparaginsäure, Glutaminsäure. Glycocoll entsteht hierbei so wenig als Indol oder Skatol.

Beim Kochen mit Alkalilauge oder Erhitzen mit gesättigter Aetzbarytlösung auf 100—150° bilden sich Ammoniak, Kohlensäure,

---

*) A. Boettcher, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 32. S. 525. Maschke, Journ. f. pract. Chem. Bd 74. S. 436. Schmiedeberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. S. 205. Drechsel, Journ. f. pract Chem. N. F. Bd. 19 S. 331. Schmidt-Mülheim, Jahresber. d. Thierarzneischule in Hannover. Jahrg. 1879—80. Grübler, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 23. S. 97. Ritthausen, ebendas. Bd. 23. S. 481.

**) Hlasiwetz u. Habermann, Ann. Chem. Pharm. Bd. 169. S. 160.

Schwefelwasserstoff, Oxalsäure, Leucin, Tyrosin. Es entsteht auch bei dieser Behandlung kein Gycocoll, aber eine grosse Reihe anderer von Schützenberger*) näher untersuchter Körper.

Bei der Fäulniss der Albuminstoffe entstehen NH_3, CO_2, SH_2, Leucin, Tyrosin, Hydroparacumarsäure und die weiteren Zersetzungsproducte derselben, Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure, Indol, Skatol, Essigsäure, normale und Isobuttersäure, Bernsteinsäure.

Bei Einwirkung von Pepsin in schwach saurer Lösung entstehen langsam Leucin und Tyrosin, durch Trypsin in ziemlich neutraler Lösung schnell Leucin, Tyrosin, NH_3, CO_2, Asparaginsäure. Durch Schmelzen mit Aetzkali erhält man aus den Albuminstoffen NH_3, CO_2, Leucin, Tyrosin, Indol, Skatol, Ameisensäure, Oxalsäure. Beim Erhitzen mit Natronkalk destilliren dem Pyrrol ähnliche Stoffe neben Ammoniak. Bei Einwirkung starker Salpetersäure werden die Albuminstoffe gelb und geben dann nach Uebersättigen mit Alkali orangerothe Lösung (Xanthoproteinsäure).

Mit hinreichendem Ueberschuss von übermangansaurem Kali in wässriger Lösung stehen gelassen, geben Albuminstoffe nach meinen Versuchen grosse Quantitäten Carbaminsäure. Nach Béchamp und nach Ritter kann durch Kaliumpermanganat aus Albuminstoffen Harnstoff erhalten werden, die Versuche von Staedeler, Loew, Tappeiner u. A. haben dies nicht bestätigt, und Lossen hat bei dieser Zersetzung Guanidin in geringer Menge gewonnen.

Destillation mit chromsaurem Kali oder Braunstein mit Schwefelsäure bildet aus den Albuminstoffen verschiedene fette flüchtige Säuren, davon Aldehyde, Nitrile, Bittermandelöl, CO_2.

Unterchlorigsaures Salz zersetzt unter Entwickelung von N_2, CO_2 und reichlicher Oxalsäurebildung. Königswasser zersetzt zu Fumarsäure, Oxalsäure, Chlorazol.

Nach diesen Zersetzungen ist die Constitution der Albuminstoffe noch nicht zu enträthseln, aber es scheint, dass dieselbe sehr complicirt und die Molecule sehr gross, Gruppen aromatischen Charakters neben solchen der fetten Stoffe in den Moleculen enthalten sind und die Gesammtanordnung der letzteren den Harnstoffen oder Guanidinverbindungen oder Hydantoinen zugehört.

Durch andauerndes Erhitzen von Asparaginsäure bei 200° hat

*) Ann. de chim. et de phys. (5) T. 16. p. 289. und zahlreiche frühere Publicationen.

Grimaux*) einen Körper von der Zusammensetzung $C_{32}H_{26}N_8O_{17}$ erhalten, welcher mit Harnstoff 2 Stunden lang auf 125—130° erhitzt eine colloidale Substanz $C_{34}H_{40}N_{10}O_{25}$ lieferte, die in Wasser löslich ist, in dieser Lösung durch Erhitzen oder Zusatz von Säuren coagulirt wird, und wie Albuminstoffe in Ammoniak, CO_2 und Amidosäuren gespalten werden kann, somit manche Aehnlichkeit mit dem Eiweiss zeigt.

Nachweis der Albuminstoffe.

170. Wenn es sich darum handelt zu bestimmen, ob eine Flüssigkeit Albuminstoffe enthält, ohne Rücksicht auf die Unterscheidung der einzelnen Proteinkörper von einander, ist es zweckmässig, eine oder mehrere der folgenden Proben anzustellen:

1) Man erhitzt eine Probe derselben zum Kochen und fügt dann Salpetersäure bis zur stark sauren Reaction hinzu. Ist entweder schon beim Kochen ein Niederschlag entstanden, der nach Zusatz von Salpetersäure unverändert bleibt, oder entsteht ein solcher Niederschlag beim Zusatz von Salpetersäure, so ist die Flüssigkeit albuminhaltig. Entsteht dagegen beim Kochen ein Niederschlag, der auf Zusatz von Salpetersäure verschwindet, so ist kein Albuminstoff in der Flüssigkeit anzunehmen. Der durch die Säure wieder gelöste Niederschlag besteht vielmehr aus Calciumphosphat (menschlicher Harn) oder aus Calciumcarbonat (Harn der Pflanzenfresser). Fügt man wenig Salpetersäure zur zu prüfenden Flüssigkeit, so können Albuminstoffe ungefällt bleiben.

2) Man säuert eine Probe der zu untersuchenden Flüssigkeit mit Essigsäure oder Salzsäure an und fügt dann einige Tropfen Ferrocyankaliumlösung hinzu; sind Albuminstoffe in der Flüssigkeit, so entsteht ein weisser flockiger Niederschlag. Ist die Flüssigkeit sehr reich an Chlornatrium oder anderen Salzen, so entsteht der Niederschlag erst nach Verdünnen mit Wasser. Spuren von Albuminstoffen geben diesen Niederschlag gut erkennbar erst nach einigen Stunden.

3) Man säuert eine Probe der zu untersuchenden Flüssigkeit mit Essigsäure oder Salzsäure bis zur stark sauren Reaction an, fügt ein der Flüssigkeitsprobe mindestens gleiches Volumen gesättigter Lösung von Natriumsulfat hinzu und erhitzt zum Kochen. Ein entstehender Niederschlag zeigt die Anwesenheit von Albuminstoffen an.

Diese dritte sehr zuverlässige Prüfungsmethode hat vor der ersten

*) Compt. rend. T. 93. p. 771.

den Vorzug, wenn sie mit Essigsäure angestellt wird, dass durch die Säure und das Glaubersalz kein Hinderniss gegeben wird nach Abfiltriren des Albuminniederschlags im Filtrate noch auf andere organische Körper z. B. Zucker zu prüfen.

4) Man versetzt die Flüssigkeit mit etwas Salzsäure und fügt tropfenweise vorsichtig metaphosphorsaures Natron hinzu. Alle Albuminstoffe ausser den Peptonen werden gefällt. Der Niederschlag ist löslich im Ueberschuss der Reagentien.

Durch diese angegebenen Reactionen werden alle Albuminstoffe ausgefällt mit Ausnahme der Peptone, für deren speciellen Nachweis die Vorschriften unten gegeben sind.

Alle Albuminstoffe ohne Ausnahme geben mit einem Ueberschuss von Millon's Reagens gekocht einen purpurrothen Niederschlag, ebenso geben sie alle mit Natronlauge zum Sieden erhitzt auf Zusatz von einem Tropfen nicht zu concentrirter Lösung von Kupfersulfat eine purpurrothe Färbung der Flüssigkeit, welche auf Zusatz eines selbst geringen Ueberschusses von Kupfersulfat in eine nicht mehr charakteristische blaue Färbung übergeht (sog. Biuretreaction).

Proteinkörper in festem Zustande geben bei der Behandlung mit molybdänsäurehaltiger Schwefelsäure intensiv blaue Färbung*). Dieselbe wird jedoch durch verschiedene Stoffe verhindert oder verdeckt.

Alle Albuminstoffe zeigen eine schöne Farbenreaction gegen Eisessig und concentrirte Schwefelsäure**). Um diese Reaction anzustellen, löst man eine Probe des zu untersuchenden Körpers in nicht zu wenig Eisessig und fügt dann allmälig concentrirte Schwefelsäure hinzu; besteht der Körper aus einem Eiweissstoff, so tritt schöne Violettfärbung und schwache Fluorescenz der Lösung ein. Bei spectroscopischer Prüfung der violetten Lösung findet man bei passender Verdünnung einen Absorptionsstreif zwischen den Spectrallinien b und F.

Aehnliche Färbungen geben auch die Lösungen von Albuminstoffen in concentrirter Schwefelsäure allein oder nach Hinzufügen eines Körnchen Rohrzucker nach Art der Pettenkofer'schen Probe auf Gallensäuren, doch ist die Methode von Adamkiewicz viel zuverlässiger, schöner und es tritt die Färbung schneller ein.

Lösungen von Proteinkörpern in concentrirter Salzsäure nehmen

---

*) Fröhde, Ann. Chem. Pharm. 145. S. 376.

**) Adamkiewicz, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 8. S. 161. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 9. S. 156. Arch. f. exper. Pathol. Bd. 3. S. 423.

nach einiger Zeit, je nach der Menge der Säure und der Temperatur früher oder später eine grünliche, dann blaue, violette, endlich braunschwarze Färbung an.

Da fast jede der aufgeführten Reactionen auch mit der einen oder andern Substanz, die nicht den Albuminstoffen zugehört, erfolgen kann, ist für die sichere Erkennung der Albuminstoffe im gegebenen Falle unerlässlich, mehrere dieser Reactionen anzustellen.

Hinsichtlich der Feinheit der Reactionen haben die Untersuchungen von Hofmeister*) ergeben, dass 1 Gewichtstheil Albuminstoff noch erkennbar ist bei Verdünnungen der Lösung durch

Biuretreaction	in	2000	Thl.	Lösung
conc. Salpetersäure	»	20000	»	»
Essigsäure und gesättigte Salzlösung	»	20000	»	»
Millon's Reagens	»	20000	»	»
Essigsäure und Ferrocyankalium . .	»	50000	»	»
Gerbsäure	»	100000	»	»
Phosphorwolframsäure	»	100000	»	»
Jodquecksilberjodkalium	»	100000	»	»
Jodwismuthjodkalium	»	100000	»	»

Trennung der Albuminstoffe von andern Körpern in Flüssigkeiten.

171. Um eine Flüssigkeit von Albuminstoffen zu befreien, pflegt man dieselbe zu kochen, indem man, falls sie nicht schon saure Reaction besitzt, so lange verdünnte Essigsäure hinzufügt, bis eine gute flockige Gerinnung erreicht ist. Wegen der Löslichkeit der Albuminstoffe in überschüssiger Essigsäure ist es nöthig, im Zusatz der Säure vorsichtig zu verfahren. Giebt eine Probe der dann filtrirten Flüssigkeit mit einem Tropfen Ferrocyankaliumlösung keine Trübung, so ist sie sicher frei von Eiweissstoffen mit Ausnahme der durch Essigsäure und Ferrocyankalium nicht fällbaren Peptone. Giebt eine zweite Probe der filtrirten stark angesäuerten Flüssigkeit auch mit Gerbsäure oder Phosphorwolframsäure keinen Niederschlag, so ist sie auch frei von Pepton.

Fürchtet man den Einfluss hoher Temperatur oder der Säure auf andere in der Lösung befindliche Substanzen, oder enthält die Lösung Acidalbumine, Propepton oder Albuminat oder Casein, so ist die an-

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2. S. 288.

gegebene Fällungsmethode unzulässig und man kann zur Ausfällung Zusatz eines Ueberschusses von kaltem Alkohol (mindestens 3 Vol. Alkohol auf 1 Vol. Flüssigkeit) oder 2) vorsichtigen Zusatz von Bleiessig, so lange Niederschlag entsteht (der Ueberschuss des Reagens löst mehrere Albuminstoffe leicht wieder auf) oder 3) Eintragen von Chlornatrium oder Magnesiumsulfat zur vollständigen Sättigung verwenden.

Um aus einer Lösung Acidalbumine, oder Casein und Albuminate zu entfernen, ist es zweckmässig, Lösung von reinem essigsauren Eisenoxyd hinzuzufügen (die Lösung darf nur sehr wenig freie Essigsäure enthalten) und so lange zu kochen, bis das Eisenoxyd als basisches Salz völlig ausgefällt ist; die dann filtrirte Lösung kann nur noch Pepton enthalten, wenn genügende Quantität Eisenacetat verwendet war. Es ist zuweilen zweckmässiger, statt des essigsauren Eisenoxyds eine Mischung von Eisenchlorid mit überschüssigem Natriumacetat zu diesem Behufe anzuwenden.

Hofmeister*) empfiehlt zur völligen Entfernung der Albuminstoffe mit etwas Bleioxydhydrat unter Zusatz von etwas Bleiacetat einige Minuten zu kochen. Anstatt des Bleihydrats kann auch Zinkoxyd oder Zink- oder Bleicarbonat verwendet werden.

Nach Méhu**) werden durch Ammoniumsulfat die Albuminstoffe aus serösen Flüssigkeiten ausgefällt, ohne ihre Löslichkeit einzubüssen.

Um alle Albuminstoffe, einschliesslich der Peptone, aus Flüssigkeiten auszufällen, dienen besonders Gerbsäure, Jodquecksilberjodkalium oder Phosphorwolframsäure, die stets in saurer Lösung zu verwenden sind. Für die Fällung mit Gerbsäure ist schwach essigsaure, für Jodquecksilberjodkalium mässig salzsaure, für Phosphorwolframsäure stark essigsaure oder stark salzsaure Lösung zu empfehlen.

Die einzelnen Albuminstoffe.

172. Trotz sehr zahlreicher neuerer Arbeiten über die Unterscheidung der einzelnen Eiweissstoffe von einander, ist man noch nicht dahin gelangt, eine befriedigende systematische Darstellung der Eigenschaften dieser Körper geben zu können, noch weniger ist man im Stande, die einzelnen Körper, wenn sie in einer Flüssigkeit neben

*) a. a. O.

**) Journ. de pharm. et de chim. 1878. Août.

einander enthalten sind, mit Sicherheit von einander alle zu trennen, doch ist dies in neuerer Zeit wenigstens für eine grosse Zahl derselben in befriedigender Weise gelungen.

Synopsis der Albuminstoffe.

I. Albumine, Proteinkörper, welche leicht in Wasser löslich sind und durch sehr verdünnte Säuren, durch verdünnte kohlensaure Alkalien, durch Chlornatrium, Magnesiumsulfat nicht gefällt, nach Sättigung ihrer Lösung mit Magnesiumsulfat bei 30° durch Sättigen derselben mit Natriumsulfat niedergeschlagen werden. Durch Erhitzen ihrer wässrigen Lösung zum Sieden werden sie gefällt und zugleich in andere Albuminstoffe umgewandelt. Durch Säuren werden sie langsam in Acidalbumine, durch Aetzalkalien zu Albuminaten umgewandelt.

1) Serumalbumin $(\alpha)_D = -62{,}6 - 64{,}6°$ *), durch Schütteln der wässrigen, etwas salzhaltigen Lösung mit Aether nicht coagulirt, in ziemlich salzfreier Lösung durch starken Alkohol ohne Veränderung fällbar, bei Anwesenheit von etwas Salz coagulirt, in starker Salzsäure leicht löslich, aus dieser Lösung durch Wasser als leicht in Wasser lösliches, salzsaures Acidalbumin gefällt.

2) Eieralbumin $(\alpha)_D = -37{,}8°$ **), durch Schütteln der wässrigen Lösung mit Aether allmälig fällbar, schwerer löslich in concentrirter Salzsäure; in dieser Lösung, wenn frisch bereitet, bringt viel Wasser einen Niederschlag hervor, der sich in Wasser sehr schwer löst. Ziemlich salzfrei ebenso wie bei Salzgehalt seiner Lösung durch Alkohol nur unter Coagulation fällbar.

3) Muskelalbumin, bei Erhitzung in neutraler Lösung bei 47°, jedenfalls stets unter 50° gerinnend.

II. Globuline, Albuminstoffe unlöslich in Wasser, löslich in verdünnter Chlornatrium- oder Magnesiumsulfatlösung. Diese Lösungen werden beim Erhitzen coagulirt, durch Zusatz von viel Wasser gefällt, der Niederschlag wird durch längeres Stehen unter Wasser unlöslich in neutralen Salzlösungen. Durch verdünnte Säuren werden sie zu Acidalbumin, durch Aetzalkalien ebenso leicht zu Albuminaten umgewandelt. Durch Sättigung der neutralen Lösung mit Magnesiumsulfat bei 30° werden sie ohne Aenderung ihrer Eigenschaften ausgefällt.

---

*) Starke, Jahresber. d. Thierchemie. 1881. S. 18.

**) Starke, a. a. O.

A. Globuline nicht fällbar durch Sättigung der neutralen Salzlösung mit Kochsalz.

1) Vitellin.

2) Globuline der Krystalllinse.

B. Globuline fällbar durch Sättigung der neutralen Salzlösungen mit Chlornatrium.

1) Myosin, Coagulationstemperatur 55°.

2) Serumglobulin $(\alpha)_D = 47{,}8^0$*), Coagulationstemperatur 72—75°.

3) Fibrinogen, Coagulationstemperatur 55—56°; es giebt mit Fibrinferment und etwas Serumglobulin unter passenden Verhältnissen Fibrin.

III. Fibrine, unlöslich in Wasser, elastisch faserig, unlöslich aber quellend in Chlornatriumlösung, noch mehr quellend aber kaum löslich in verdünnten Säuren, ebenso in verdünnter Sodalösung. Beim Erhitzen in Wasser über 75° härtlich coagulirend. Durch Magensaft leicht gelöst.

IV. Mucin, in neutralen Salzlösungen auch bei Anwesenheit von Essigsäure zur schleimig fadenziehenden Flüssigkeit löslich, unlöslich in Essigsäure bei Abwesenheit neutraler Salze, leicht in Alkalialbuminat durch Alkali übergeführt.

V. Coagulirte Albuminstoffe, unlöslich in Wasser, Salzlösung, auch wenig quellend darin, durch Sodalösung oder verdünnte Säure kaum gelöst, durch Jodlösung nicht gefärbt, durch Magensaft zu Acidalbumin, dann Pepton gelöst, aber langsamer als Fibrin unter gleichen Verhältnissen.

VI. Amyloid, unlöslich in Wasser, in neutralen Salzlösungen, kohlensauren Alkalilösungen und verdünnten Säuren, auch in denselben nicht besonders quellend, durch Magensaft bei Bluttemperatur kaum angreifbar. Durch Jodlösung braunroth bis violett gefärbt.

VII. Acidalbumine, unlöslich in Wasser sowie in neutralen Salzlösungen, frisch gefällt leicht löslich in sehr verdünnter Salzsäure oder Sodalösung, durch Neutralisation völlig wieder ausfällbar, unlöslich in kaltem oder heissem Alkohol, aus der Lösung in verdünnter Säure durch Sättigung mit Chlornatrium fällbar ohne Veränderung der Eigenschaften, durch Aetzalkali in Albuminat übergeführt.

1) Syntonin wird durch Behandlung mit Kalkmilch und Salmiak in Myosin umgewandelt.

*) Frédéricq, Arch. de biologie. I. p. 17.

2) Acidalbumine, welche bei dieser Behandlung kein Myosin geben.

VIII. Albuminate, wenig löslich in Wasser, sehr wenig löslich in kaltem, leichter in heissem Alkohol. Die wässrigen Lösungen reagiren schwach sauer, leicht löslich in Sodalösung, auch leicht löslich in sehr verdünnten Mineralsäuren, aus letzteren Lösungen durch Eintragen von Chlornatrium bis zur Sättigung gefällt ohne Aenderung ihrer Eigenschaften.

1) Casein, aus neutraler, schwach saurer Lösung durch Lab gelatinös oder flockig unter chemischer Veränderung gefällt.

2) Alkalialbuminat, aus der schwach sauren oder mit Kalkwasser neutralisirten Lösung durch Lab nicht fällbar.

IX. Hemialbumose oder Propepton zeigt im Uebrigen die Eigenschaften der Acidalbumine, ist aber löslich in Wasser, nicht fällbar in verdünnter Lösung durch Salpetersäure in der Wärme, wohl aber bei gewöhnlicher Temperatur, giebt die Biuretreaction ohne Erhitzen mit Aetzalkali.

X. Peptone, in jedem Verhältniss in Wasser löslich, verbindbar mit Säuren und Metallen gleichzeitig, nicht fällbar durch Essigsäure und Ferrocyankalium, Platinchlorid, Säure und Sättigung mit Chlornatrium, Salpetersäure, Kochen mit essigsaurem Eisenoxyd. Beim Trocknen über 100° unter Wasserabgabe allmälig in Propepton übergehend.

Danilewski*) hat nach ihrem Verhalten gegen Säuren und Basen, geprüft durch Tropäolin OO und Tropäolin OOO No. 1. die Albuminstoffe classificirt und ist hierbei zu einer Eintheilung gekommen, die sich mit der oben von mir gegebenen sehr wohl vereinigen lässt. Er zieht hierbei in Betracht die Acidalbumine, Albuminate, Fibrin, Peptone und Stoffe, welche bei der Pankreasverdauung in alkalischer oder saurer Lösung Uebergangsproducte in die Peptone darstellen sollen, die er Protalbstoffe nennt. Er findet, dass bei gewöhnlicher Temperatur Mineralsäuren zu binden und sich zu lösen vermögen: Myosin, Syntonin, Acidalbumin, Fibrin und Peptone von Pepsinverdauung, dass dagegen diese Bindung nicht geschieht durch Albumin, Albuminate, Casein, Peptone der Pankreasverdauung in alkalischer oder saurer Lösung. Er findet ferner, dass Albuminate, Casein, Protalbstoffe und Peptone Basen zu binden vermögen, während

*) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1880. No. 51.

Myosin, Syntonin, Blutfibrin und Pepton durch Pankreasferment in saurer Lösung gebildet dies nicht vermögen. Hiervon ist manches bereits bekannt gewesen, anderes bedarf näherer Untersuchung; die ausgeführten neuen Reactionen sind zur Unterscheidung werthvoll.

Danilewski hat diese Untersuchungsresultate zusammengestellt in Bibliothèque universelle de Genève, Arch. des sciences phys. et naturelles (3) T. 7. No. 4. Avril 1882. Dieselben sind dem Verf. leider zu spät zugekommen, um hier noch in Betracht gezogen werden zu können.

Specielle Beschreibung der einzelnen Albuminstoffe.

I. Albumine.

1. Serumalbumin.

173. Serumalbumin, von Denis Serin genannt, findet sich reichlich im Blutserum, Lymphe, Chylus, pathologischen Transsudaten und in der Substanz der quergestreiften Muskeln und tritt bei Nierenkrankheiten von allen Albuminstoffen meist am reichlichsten in den Harn über. In der Milch findet sich im Anfang der Lactation viel, später nur wenig Serumalbumin.

Nach den Untersuchungen von Hammarsten und Starke*) wird reines Serumalbumin gewonnen durch Ausfällen von Blutserum oder serösen Transsudaten mit gepulvertem Magnesiumsulfat bis zur vollständigen Sättigung bei 30° eingetragen, Auswaschen des Niederschlags mit einer bei dieser Temperatur gesättigten Lösung von Magnesiumsulfat, Fällen der filtrirten Flüssigkeit mit Natriumsulfat bis zur Sättigung bei 40° eingetragen, Auspressen des Niederschlags, mehrmaliges Lösen des Niederschlags in Wasser und Ausfällen durch Natriumsulfat bei 40°, Entfernung der Salze aus demselben durch Diffusion mit grossen Mengen destillirten Wassers, Fällung mit absolutem Alkohol, Auswaschen mit weiteren Portionen desselben, Austreiben des Alkohols durch Aether und Verreiben des Rückstandes zur Vertreibung des Aethers in offenen Schalen.

Das auf diese Weise rein (bis auf einen sehr geringen Aschegehalt) dargestellte Serumalbumin enthält nach Hammarsten (Pferdeblutserum) C 53,05 H 6,85 N 16,04 S 1,8, aus Pleuraexsudat dar-

*) Jahresber. f. Thierchemie. 1881. S. 17.

gestelltes Serumalbumin C 52,25 H 6,65 N 15,88 S 2,27. Im Serumalbumin aus Hydrocele wurde S 2,35 gefunden.

Die spec. Drehung des Serumalbumin wurde von Frédéricq*) für Pferde-, Rinds- und Kaninchenblut übereinstimmend zu $(\alpha)_D = -57{,}3^0$, diejenige des Serumalbumins aus Hundeblut zu $(\alpha)_D = -44^0$ gefunden. Starke**) erhielt spec. Drehung des möglichst gereinigten Serumalbumin, von Ascites- und Hydrocelflüssigkeit zu $(\alpha)_D = -62{,}6$ bis $-64{,}59^0$, für Pferdeblutserumalbumin $-60{,}05^0$.

Möglichst salzfrei dargestelltes Serumalbumin gerinnt in ungefähr 1 procentiger Lösung gegen 50^0, durch Zusatz von NaCl wird die Coagulationstemperatur erhöht. In der Mischung aus Serumglobulin und Salzen wie das Serumalbumin im Blut und Lymphserum auftritt gerinnt es stets über 60^0 zuerst als Trübung, zwischen $72-75^0$ in Flocken. Zusatz von Salz, Säuren oder Alkalien ändern die Gerinnungstemperatur erheblich.

Durch CO_2, Essigsäure und andere in Wasser lösliche fette Säuren, dreibasische Phosphorsäure wird das Serumalbumin nicht aus seinen wässrigen Lösungen gefällt, und wenn die Temperatur nicht hoch ist, auch die Säure in grosser Verdünnung angewendet wird, und ihre Einwirkung nicht lange dauert, kann durch vorsichtiges Neutralisiren mit Calciumcarbonat, Soda oder verdünntem Ammoniak eine klare neutrale Lösung von Serumalbumin wieder erhalten werden. Je höher dagegen die Temperatur, 2) je stärker die Concentration der zugesetzten Säure, 3) je grösser ihre relative Quantität ist, desto schneller wird das Serumalbumin in Acidalbumin umgewandelt, indem die Flüssigkeit eine weissliche Opalescenz und eine Vergrösserung der spec. Drehung bis ungefähr $(\alpha)_D = -71^0$ annimmt. Diese Einwirkung zeigen ausser der CO_2 alle obengenannten Säuren.

Versetzt man eine Lösung von Serumalbumin mit einer geringen Menge einer sehr verdünnten Mineralsäure, so wird es weder gefällt noch sonst in bemerkbarer Weise verändert; durch grössere Quantitäten concentrirter Säure wird seine Lösung zunächst unter Steigerung der Circumpolarisation getrübt; es bildet sich beim Neutralisiren ein Niederschlag, der um so reichlicher erscheint, je stärker und je länger dauernd die Einwirkung der Säure war. Durch genügend concentrirte Mineralsäuren kann alsbald Coagulation erfolgen. Am Energischsten

---

*) Arch. de biologie. Vol. I. p. 17 u. p. 457. Vol. II. p. 379.

**) a. a. O.

wirken in dieser Beziehung Salpetersäure und Metaphosphorsäure. Mit starker Salzsäure entsteht ein Niederschlag, der in Wasser gelöst die spec. Drehung $(\alpha)_D = -78.7$ zeigt und aus salzsaurem Acidalbumin besteht.

Aetzammoniak wirkt auf Serumalbumin nur allmälig verändernd ein, wenn es verdünnt ist. Kali- oder Natronlauge verwandeln es in wässriger Lösung unter bedeutender Steigerung der Circumpolarisation in Albuminat, selbst geringe Mengen Aetzalkali haben diese Wirkung. Sehr concentrirte Lösungen von Serumalbumin tropfenweise unter Umrühren mit concentrirter Kalilauge versetzt, erstarren zu einer völlig durchsichtigen Gallert von Kalialbuminat.

Schon geringe Mengen von Säure oder von Alkali reichen hin, eine grosse Quantität von Serumalbumin zu Acidalbumin, resp. zu Albuminat umzuwandeln, wenn die Lösung mit NaCl oder Na_2SO_4 gesättigt ist; es tritt vollständige Ausfällung ein. Salze schwerer Metalle verändern Serumalbumin schnell meist unter Bildung von Acidalbumin. Die schwach mit Essigsäure versetzte Lösung giebt mit Ferrocyankalium, etwas langsamer mit Platincyankalium einen Niederschlag, welcher zunächst bei Neutralisation mit Soda Globulinsubstanz, nach kurzem Stehen jedoch Acidalbumin ergiebt. Aus keinem Niederschlag (ausgenommen die Alkoholfällung des sehr salzarmen Serumalbumin) hat man bis jetzt Serumalbumin wieder erhalten können; bei der Bildung eines Niederschlags scheint es stets bereits eine Umwandlung zu erleiden.

2. Eieralbumin.

174. Das Eiweiss der Vogeleier enthält in einem Fächerwerk von zarten Membranen eingeschlossen eine concentrirte Lösung, welche hauptsächlich das Eieralbumin enthält. Man stellt dasselbe dar durch Zerschneiden des Eiweiss mit der Scheere, Pressen durch Leinwand und Filtriren (am Besten nach Mischen mit dem gleichem Volumen Wasser). Filtrirt man die Mischung in reiner CO_2-Atmosphäre bei völligem Ausschluss von Sauerstoff, so bleibt sie ziemlich farblos; an der Luft filtrirt wird sie bräunlich. Man reinigt die Lösung durch Sättigung mit Magnesiumsulfat und dann mit Natriumsulfat wie es oben für Serumalbumin angegeben ist*), aber beides bei 20°, entfernt die Salze durch Diffusion mit viel Wasser und dampft dann die mög-

---

*) Starke, a. a. O.

lichst salzfreie Lösung bei 40—50° zur Trockne ein. Durch Behandlung mit Alkohol wird das Eieralbumin schnell coagulirt.

Hammarsten fand das in dieser Weise gereinigte Eieralbumin von Hühnereiern zusammengesetzt aus C 52,25, H 6,9, N 15,25, S 1.93, O 23,67 pCt. Die spec. Drehung des Eieralbumin wurde von mir zu $(\alpha)_D = -35{,}5^0$, von Haas zu $-38{,}1^0$, von Starke zu $-37{,}79^0$ für 2—6 procentige Lösungen bestimmt.

Beim Schütteln der noch ungereinigten Eieralbuminlösungen mit Aether tritt allmälig Coagulation ein, durch rauchende Salzsäure wird es gelöst und geht zunächst in ein in Wasser und verdünnter Salzsäure sehr schwer lösliches Acidalbumin oder einen coagulirten Albuminstoff über, aus dem beim Stehen mit der starken Säure sich aber bald gewöhnliches Acidalbumin bildet. Eieralbumin löst sich auch schwer in starker Salpetersäure, während Serumalbumin sich leicht darin löst.

Durch Dialyse gut gereinigtes Eieralbumin verhält sich nach Laptschinsky*) ebenso wie nicht dialysirtes Eieralbumin in verdünnter Lösung; es zeigt auch nach langer Dialyse süssen Geschmack und enthält noch ungefähr 1 pCt. Asche, darin auch lösliche Salze. Die spec. Drehung erleidet durch Einwirkung von Säuren oder Alkalien ähnliche Steigerungen wie das Serumalbumin, ohne jemals der Höhe der spec. Rotation des Serumalbumin nahe zu kommen. Gautier**) sowie Béchamp***) glauben im Eiereiweiss mehre Albuminstoffe gefunden zu haben. Nach Gautier hat der eine die spec. Drehung $(\alpha)_D = -43{,}2^0$, der andere -26^0.

Aus wässriger Lösung des Eieralbumin hat Harnack†) mit Kupfersulfat Niederschläge erhalten, welche nach gutem Auswaschen frei von Schwefelsäure waren und entweder 1,35 oder 2,64 pCt. Kupfer enthielten. Die eine dieser Verbindungen wird von ihm als $C_{204}H_{320}N_{52}O_{66}S_2Cu$ und die andere als $C_{204}H_{318}N_{52}O_{66}S_2Cu_2$ aufgefasst.

Analysen einer Platinverbindung von Fuchs††) und von Comaille†††) mit 8,02—8,1 pCt. Platingehalt stimmen hiermit. Das Eieralbumin wird jedoch bei der Bildung dieser Verbindungen verändert sein.

Einen in Wasser gelösten, bei 61° gerinnenden Albuminstoff, weder durch

*) Wien. Acad. Sitzungsber. Bd. 76. III. Juli 1877.

**) Compt. rend. T. 79. p. 228. Zeitschr f. Chem 1869.

***) Compt. rend. T. 77. p. 1558.

†) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S 198.

††) Ann. d. Chem. Bd. 151. S. 372.

†††) Moniteur scientif. Octobre 1866.

Kupfersulfat noch durch Silbernitrat, wohl aber durch Quecksilberchlorid fällbar, erhielt Gautier*) durch Lösen von Fibrin in Chlornatriumlösung von 10 pCt. und Entfernung des NaCl aus dieser Lösung durch fortgesetzte Dialyse nach Zusatz von etwas Blausäure, um die Fäulniss zu verhindern. Der Körper zeigte die Zusammensetzung C 52,71, H 7,05, N 15,64, S 1,64 pCt.

3. Muskelalbumin.

In den quergestreiften Muskeln besonders der Warmblüter findet sich in geringer Menge (in Spuren auch in andern Organen) ein Proteinkörper, der in Wasser in allen Verhältnissen löslich ist, durch NaCl bis zur Sättigung eingetragen nicht niedergeschlagen, durch Sättigung der Lösung mit $MgSO_4$ sehr schwer gefällt wird, in wässriger Lösung erwärmt bis 46—47 ° in Flocken eines coagulirten Albuminstoffs verwandelt wird. Dieser Körper steht durch dies Verhalten in der Mitte zwischen Albuminen und Globulinen. Er ist noch nicht isolirt, seine spec. Drehung und Zusammensetzung sind noch unbekannt.

II. Globuline.

1. Vitellin.

175. In thierischen sowie in pflanzlichen Organen finden sich allgemein verbreitet besonders in Eiern und Samen oft sehr reichlich Albuminstoffe, welche unlöslich in Wasser, leicht löslich in nicht gesättigten neutralen Salzlösungen, auch leicht löslich in sehr verdünnten Säuren und Alkalien durch Sättigung der neutralen Salzlösungen mit NaCl nicht gefällt werden, bei Sättigung dieser Lösungen mit Magnesiumsulfat dagegen, wenn auch schwierig, ausgeschieden werden.

Aus Pflanzensamen sind diese Albuminstoffe zum Theil künstlich in Krystallen gewonnen, aus thierischen Organen nicht mit Sicherheit krystallisirt erhalten (vergl. oben S. 259). Sehr reichlich erhält man Vitellin aus dem Eidotter (gelbe Dotterkugeln und Dotterkrystalle von nackten Amphibien und Fischen) ebenso aus den Krystalllinsen der Augen aber nie in genügender Reinheit. In den Dotterkugeln und Dotterkrystallen ist stets mit ihnen in lockerer Verbindung oder neben ihnen enthalten Lecithin und Nuclein, deren Abtrennung ohne chemische Aenderung der Vitelline noch nicht gelungen ist und aus den Krystalllinsen erhält man die Vitellinsubstanz in trüber Lösung, von der man nicht wohl angeben kann, in wie weit der enthaltene Vitellinkörper noch mit anderen Stoffen verunreinigt ist.

---

*) Compt. rend. T. 79. p. 228.

Aus dem Dotter vom Hühnerei erhält man das noch unreine Vitellin durch schnelles und häufiges Ausschütteln mit Aether in grossen Portionen, so lange er sich noch lebhaft gelb färbt, Lösen des Rückstandes in wenig Chlornatriumlösung, Filtriren durch Faltenfilter, Fällen mit Wasser in grossem Ueberschuss, schnelles Auswaschen und Trocknen im Vacuum. Aus den Dotterkrystallen vom Frosch, Stör und andern Amphibien und Fischen erhält man Vitellin durch schnelles Waschen und Schlämmen derselben mit viel Wasser, Ausschütteln des Rückstandes mit Aether, Lösen in möglichst wenig nicht zu concentrirter Chlornatriumlösung, Filtriren, Ausfällen und Waschen mit Wasser, Trocknen im Vacuum.

Aus Krystalllinsen zieht man das Vitellin nach ihrem Zerschneiden und Zerreiben mit Steinsalzstückchen in der Porzellanschale mit Wasser aus, in dem die Steinsalzstückchen sich lösen. Die filtrirte Lösung wird mit viel Wasser und einem Strom CO_2 oder vorsichtigem Zusatz von Essigsäure gefällt, gewaschen und getrocknet.

Beim Stehen unter Wasser werden die Vitelline in Salzlösung unlöslich. In 1 p. M. ClH enthaltendem Wasser gehen sie alsbald in Acidalbumin, und beim Stehen oder schnellen Erwärmen mit Aetzkalilösung in Alkalialbuminat über. Beim Erhitzen der Lösung der Vitelline in Salzlösung tritt bei ungefähr 75° Coagulation ein. Natriumcarbonat löst das Vitellin und verändert es in der Lösung allmälig zu Natriumalbuminat. Löst man frisch gefälltes Vitellin in sehr wenig 1 procentiger Sodalösung, so trübt sich die Lösung in kurzer Zeit, erneuerter Zusatz von Soda löst wieder, und abermals kann nach einiger Zeit Trübung eintreten*), indem das Alkali vom gebildeten Albuminat in Beschlag genommen wird.

Die thierischen Vitelline sind schwer rein zu erhalten, da sie nicht allein Lecithin, sondern auch Nuclein mit sich in Lösung und Niederschläge mitführen und das erstere beim Schütteln mit Aether nicht vollständig abgeben.

2. Myosin.

176. Myosin entsteht bei der Todtenstarre der contractilen Substanz aller Muskeln und wahrscheinlich im Allgemeinen der sich bewegenden Protoplasmen.

---

*) Weyl, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. S. 74.

Um es darzustellen, wäscht man nach Danilewski*) gut zerkleinerte Muskeln schnell mit kaltem Wasser aus, besonders um den Blutfarbstoff und Serumalbumin zu entfernen, presst die rückständige Masse aus, rührt sie mit 10—20 procentiger wässriger Chlorammoniumlösung zusammen, lässt einige Stunden stehen, filtrirt erst durch Leinwand, dann durch Papier. Die Lösung ist um so dickflüssiger, je weniger Salmiaklösung benutzt ist. Erwärmt man die Myosinlösung, so tritt Trübung bei 40—43° ein, bei 55° erscheint flockiger Niederschlag. Lässt man die Myosinlösung in Wasser eintropfen, so scheiden sich Gerinnsel von Myosin ab, die dann schnell mit Wasser zu waschen sind. Auf die angegebene Art dargestellt enthält das Myosin Calcium, Magnesium und Phosphorsäure. Die Asche des reinen, frisch dargestellten Myosin reagirt alkalisch und giebt an Wasser Kalkhydrat ab, es bleibt Calciumphosphat und Sulfat und Magnesiumphosphat zurück; die Schwefelsäure stammt vom Schwefel des Myosin. Danilewski fand im trocknen Myosin Ca 0,47, Mg 0,07, PO_4 0,30 pCt., so dass 0,30 pCt. Ca ungesättigt bleibt.

In Wasser vertheilt und tropfenweise unter Umrühren mit sehr verdünnter Salzsäure (1/10 Normallösung) versetzt und mit Tropäolin OO geprüft, zeigt Myosin Aufnahme von Salzsäure unter Auflösung, ehe das Reagens in der Lösung freie Salzsäure angiebt. Es verbindet sich also mit Säure, und die Verbindung ist in Wasser löslich.

Zur Darstellung von Myosin kann man zerkleinerte Muskelsubstanz in zwei gleiche Theile theilen mit wenig Wasser, den einen derselben mit verdünnter Salzsäure versetzen, bis Tropäolin OO Säurereaction angiebt, dann beide Theile mischen, coliren und filtriren. Diese Lösung kann ohne Umwandlung des Myosin in Syntonin auf 30—35° erwärmt werden. Durch Neutralisation derselben mit Natronlauge, Soda oder Kalkwasser wird das Myosin gefällt. Mit Salzsäure neutralisirtes, dann getrocknetes Myosin enthält 3—4 pCt. ClH. Durch mehr verdünnte Salzsäure wird es in Syntonin übergeführt und zwar geht zur Hälfte mit Salzsäure gesättigtes Myosin bei 40° langsam, bei 50° schnell in Syntonin über, verliert dabei Calcium und die das Calcium bindende Quantität Salzsäure reicht hin, aus salzsaurem Myosin noch nicht sauer reagirendes Syntonin zu bilden. Myosin zeigt stets eine etwas grössere Sättigungscapacität gegen Salzsäure als das aus ihm gebildete Syntonin.

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 158.

Basen werden vom Myosin kaum gebunden, obwohl überschüssiges Alkali leicht Myosin auflöst, aber ohne wesentliche Abnahme der alkalischen Reaction.

Löst man Syntonin (vergl. S. 282) in möglichst wenig Kalkwasser, trägt dann trocknes Salmiakpulver fast bis zur Sättigung ein, filtrirt durch Faltenfilter und neutralisirt die alkalische opalisirende dicke Lösung mit sehr verdünnter Essigsäure, bis violettes Lackmus keine alkalische Reaction mehr angiebt, so bleibt die Flüssigkeit klar, schwach opalisirend und verhält sich wie eine Salmiaklösung von Myosin in allen Reactionen. Man kann durch NaCl, bis zur Sättigung eingetragen, oder durch sehr viel Wasser das Myosin fällen*).

Lässt man Myosin längere Zeit unter Wasser stehen, so verliert es allmälig seine Löslichkeit in Salmiaklösung, später auch seine Löslichkeit in sehr verdünnter Salzsäure und quillt nur damit, löst sich auch nicht mehr in Kalkwasser. Erwärmt man diese Modification mit 0,1 procentiger Natronlauge auf 35—45°, so erhält man gewöhnliches Syntonin, welches sich in angegebener Weise wieder in Myosin verwandeln lässt.

Wird Myosin mit 50 procentigem Alkohol gekocht, und heiss filtrirt, so wird das Filtrat bei der Abkühlung nicht getrübt. Wird es in concentrirter Salzlösung durch Erhitzen coagulirt, so enthält die klare Flüssigkeit nicht wenig Calcium. Durch saure Pepsinlösung wird Myosin leicht und vollständig, durch alkalische Trypsinlösung dagegen langsam in Pepton verwandelt.

3. Serumglobulin.

177. Blutcasein, Paraglobulin, fibrinoplastische Substanz sind im Wesentlichen Bezeichnungen für dieselbe Globulinsubstanz, welche von Weyl und von mir, um Verwechselungen vorzubeugen, wegen ihres reichlichen und regelmässigen Vorkommens im Blutserum den Namen Serumglobulin erhalten hat.

Die einzige brauchbare Methode, das Serumglobulin aus Blutserum, Lymphe und Transsudation genau abzuscheiden, ist die von Hammarsten**) angegebene Ausfällung desselben durch Sättigung der Flüssigkeit mit Magnesiumsulfat, Mischung der Masse mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung, Filtration, Auswaschen mit der ge-

*) Danilewski, a. a. O.

**) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 17. S. 413. Bd. 18. S. 38.

sättigten Lösung dieses Salzes, Lösen des Niederschlags in Wasser, Fällung durch grossen Ueberschuss von Wasser, Durchleiten eines Stromes CO_2, Waschen mit Wasser durch Decantiren, Filtration und schnelles Trocknen im Vacuum.

Das gereinigte Serumglobulin besitzt nach den Analysen von Hammarsten*) die Zusammensetzung C 52,71, H 7,01, N 15,85, S 1,11, O 23,32 pCt. und nach Fredericq die spec. Rotation für $(\alpha)_D = -47{,}8^0$ in verdünnter Chlornatrium- oder Magnesiumsulfatlösung, gleichgültig ob es aus dem Blute vom Pferd oder Hund u. s. w. gewonnen ist.

Reines Serumglobulin ist unlöslich in gesättigter NaCl-Lösung, aber nicht vollständig fällbar aus verdünnter Salzlösung durch Eintragen von Steinsalz, wenn Serumalbumin zugleich in der Lösung ist. Es wird aus verdünnter Salzlösung beim Erhitzen coagulirt bei 75^0 (in 10procentiger NaCl-Lösung nach Weyl**), bei $69-76^0$ nach Hammarsten***)). Eine Lösung von Serumglobulin in Wasser, durch möglichst wenig Natronlauge erhalten, wird beim Hinzufügen sehr kleiner NaCl-Mengen, so dass die Lösung 0,03—0,7 pCt. NaCl enthält, bei Zimmerwärme gefällt.

Der bei der Fäulniss verschiedener Eiweissstoffe in Lösung übergehende Albuminkörper, ebenso die mit verdünnter Chlornatriumlösung aus den Organen in den verschiedensten Thieren extrahirbare Globulinsubstanz hat, abgesehen von den beim Vitellin beschriebenen Organen, keinen Unterschied vom Serumglobulin in den Reactionen erkennen lassen.

4. Fibrinogen.

178. Fibrinogen enthalten diejenigen Flüssigkeiten, welche entweder beim ruhigen Stehen bei gewöhnlicher Temperatur von selbst gerinnen unter Bildung von Fibrin oder zur Gerinnung gebracht werden, wenn einige Tropfen der aus frisch geronnenem Blute ausgepressten Flüssigkeit zu einer Probe derselben hinzugefügt und die Mischung eine Zeit lang stehen gelassen wird†).

---

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 22. S. 502. Die einzelnen Präparate zeigten ziemlich erhebliche Verschiedenheiten im Gehalte an C und N.

**) a. a. O. S. 99.

***) a. a. O.

†) Vergl. die Arbeiten von Alex. Schmidt, zusammengestellt in Hoppe-Seyler, Physiol. Chemie. S. 411.

Das Fibrinogen ist eine in albuminhaltigen Flüssigkeiten ziemlich beständige Globulinsubstanz, leicht und vollständig fällbar durch Chlornatrium oder Magnesiumsulfat bis zur Sättigung der Lösung eingetragen; in verdünnten Salzlösungen leicht löslich aber schon bei 55 bis 56 °, unter Abscheidung eines fibrinähnlichen Coagulum gerinnend*). Hammarsten fand seine Zusammensetzung zu C 52,93, H 6,90, N 16,66, S 1,25, O 22,26 pCt. Durch Erhitzen bis 58—60 ° wird das Fibrinogen in zwei Eiweissstoffe umgewandelt, von denen der eine sich ausscheidet und unlöslich in Wasser ist von der Zusammensetzung C 52,46, H 6,84, N 16,93, S 1,24, O 22,53 pCt., während der andere, in der Lösung bleibende, durch Dialyse der Lösung mit viel Wasser von Salz gereinigte nach Fällung mit Alkohol und Waschen damit aus C 52,84, H 6,92, N 16,25, S 1,03, O 22,96 pCt. besteht. Beide sind ein wenig sauerstoffreicher als das Fibrinogen, können also Spaltungsproducte sein, für welche auch Hammarsten sie ansieht; der erstere ist reicher, der andere ärmer an Stickstoff als das Fibrinogen.

Befindet sich in einer Lösung von Fibrinogen zugleich eine hinreichende Menge Serumalbumin, so kann die Flüssigkeit, z. B. Hydrocele, welche fast immer beide Eiweissstoffe enthält, bis 60 ° ohne Gerinnung erhitzt werden.

Eine Fibrinogenlösung längere Zeit bei 36—40 ° erhalten, verliert nach Hammarsten die Fähigkeit mit Fibrinferment versetzt zu gerinnen.

In reinem Zustande kann das Fibrinogen nur schwer erhalten werden. Nach Hammarsten wird es auf NaCl-Zusatz bereits gefällt, wenn die Lösung durch weiteren Zusatz von NaCl 16 pCt. davon enthält, während das gleichzeitig wohl stets vorhandene Serumglobulin bei diesem Salzgehalte nur dann ausfällt, wenn die Lösung sehr reich daran ist. Zu seiner Reindarstellung wird am Besten Fibrinogen mit dem Serumglobulin aus Pferdeblutplasma oder Hydrocele durch Sättigung mit NaCl gefällt, der Niederschlag alsbald in Wasser wieder gelöst und nun fractionirt mit NaCl gefällt; der erste Niederschlag enthält reines Fibrinogen.

Gegen Säuren und Alkalien verhält sich Fibrinogen ebenso wie

*) Hammarsten, Maly's Jahresber. d. Thierchemie. Bd. 6. S. 19. Gerinnung bei 53—56 °. Fredericq, Ann. de la soc. de méd. de Gand 1877. Bull. de l'Acad. de Belgique, Ser. 2. T. 64. No. 7. Gerinnung bei 54—57 °, meist 55—56 °.

Serumglobulin. Beim Stehen unter Wasser wird es wie dieses bald verändert, löst sich dann nicht wieder in verdünnter Salzlösung und giebt mit Ferment nicht mehr Fibringerinnung.

III. Fibrin.

179. Es ist mehrfach der Versuch gemacht, mehrere verschiedene Fermente zu unterscheiden, aber die aufgestellten Unterschiede haben sich nicht als genügend erwiesen. Fibrin, wie es sich bei der Gerinnung des aus der Ader gelassenen Blutes bildet, ist gallertig, wird beim Schlagen faserig, durchscheinend, elastisch wie Kautschuk, so lange es feucht ist, lässt sich bei genügender Zertheilung mit verdünnter Chlornatriumlösung und mit Wasser gut auswaschen. Seine Zusammensetzung ist in guter Uebereinstimmung mit älteren Analysen nach Hammarsten*) C 52,68, H 6,83, N 16,91, S 1,10, O 22,48 pCt. Durch Erhitzen auf 75° oder Behandlung mit Alkohol wird es coagulirt, weisslich, undurchsichtiger, brüchiger und weniger leicht löslich in künstlicher Verdauungsflüssigkeit. In sehr verdünnter Salzsäure ebenso in Essigsäure oder Alkalilauge quillt es hoch auf, löst sich in letzterer langsam, in sehr verdünnter Salzsäure zunächst fast gar nicht.

IV. Mucin.

180. Mucin aus Galle durch Fällung mit Essigsäure, Lösung in Natriumcarbonat und baldige Fällung mit Essigsäure dargestellt, hat nach Landwehr**) die Zusammensetzung C 53,09, H 7,6, N 13,8, S 1,10, O 24,41 pCt., in welcher der hohe Wasserstoff- und geringe Stickstoffgehalt, hohe Sauerstoffgehalt Abweichungen von der Zusammensetzung der übrigen Albuminstoffe zeigt.

Hammarsten fand im Mucin 1,04 pCt. Schwefel. Aeltere Analysen von Mucin aus Submaxillardrüsen haben abweichende Resultate ergeben, weil ihnen ein Körper beigemengt war, welcher offenbar dem Mucin als solchem nicht zugehört und beim Kochen mit verdünnter Säure in eine zuckerähnliche, Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirende Substanz umgewandelt wird***).

Mucin findet sich gelöst in verschiedenen Secreten wie Galle,

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 22. S. 502.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 371.

***) Vergl. die Arbeiten von Eichwald, Ann. Chem. Pharm. Bd. 134. S. 177. Obolenski, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 4. S. 336. Hilger, ebendas Bd. 3. S. 169.

Submaxillarspeichel, auch in Synovia, spurweise im normalen Harne; auf den Schleimhäuten der Luftwege und des Darmes ist es im mehr oder weniger zähen Schleime, welcher von dem Epithel abgesondert wird, enthalten; es charakterisirt ferner das Schleimgewebe der Wharton'schen Sulze, der Schleimbeutel und zwischen den Strängen der Sehnen und Bänder sowie in ihrer Umgebung. Jernström*) analysirte das Mucin aus dem Gewebe des Nabelstranges, welches beim Kochen mit verdünnter Säure in alkalischer Lösung Kupferoxyd reducirende Substanz liefert, und fand im Mittel C 51,33, H 6,63, N 14,13, S 1,04, O 26,86, Asche 1,8 pCt.

Mucin wird durch Essigsäure gefällt, durch Ueberschuss der Säure kaum gelöst. Es löst sich frisch gefällt in neutralen Salzlösungen zur schleimigen Flüssigkeit auch bei Anwesenheit von Essigsäure, quillt und löst sich in Kalkwasser, Aetzalkali, Alkalicarbonat, wird durch Essigsäure aus diesen Lösungen gefällt; beim längeren Verweilen in denselben, schneller beim Erwärmen geht es in Alkalialbuminat über. Beim Kochen von Mucin mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure erhält man Acidalbumin. In dem Mucin aus Weinbergschnecken dargestellt fand Landwehr**) ein dem Glycogen sehr ähnlich sich verhaltendes, Kupferoxydhydrat lösendes, aber nicht reducirendes Kohlehydrat, welches beim Kochen mit verdünnter Säure Zucker gab; dasselbe konnte durch Kochen mit Wasser zum Theil abgetrennt werden. Das Mucin Eichwald's***) ist sonach als ein Gemenge anzusehen. In wie weit jedoch die einzelnen Mucine identische oder nur ähnliche Körper oder Verbindungen von Eiweissstoffen mit geringen Mengen einfacherer Körper anzusehen sind, müssen weitere Untersuchungen ergeben. Vorläufig können nur seine bestimmt nachgewiesenen Beziehungen zu den Eiweissstoffen festgehalten werden. Eine Identität mit Chondrin, die vor einiger Zeit behauptet wurde, ist ausgeschlossen und ihre Annahme überhaupt nie möglich gewesen.

V. Coagulirte Albuminstoffe.

181. Die coagulirten Albuminstoffe entstehen aus Albuminin, Fibrin, Globulinen durch Erhitzen oder durch längere Einwirkung von

---

*) Jahresbericht f. Thierchemie. 1880. S. 34.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 75.

***) a. a. O.

Alkohol bei neutraler Reaction. Eieralbumin wird auch durch starke Salzsäure sowie durch Aether in einen coagulirten Albuminstoff übergeführt. Die aus ihren Lösungen durch Neutralisiren ausgeschiedenen Albuminate sowie das Casein scheinen beim Erhitzen in coagulirte Albuminstoffe überzugehen. Ueber das chemische Verhalten der coagulirten Albuminstoffe ist nur sehr wenig bekannt. Sie lösen sich nicht in Wasser, Alkohol und andern indifferenten Flüssigkeiten, sehr schwer in verdünnten Aetzalkalien, besonders schwer in Ammoniak. In Essigsäure quellen sie und lösen sich allmälig, in sehr verdünnter Salzsäure sind einige, vielleicht alle so gut wie unlöslich. Durch Lösung von Pepsin in sehr verdünnter Chlorwasserstoffsäure werden sie bei der Bluttemperatur zunächst in Acidalbumin und dann in Pepton umgewandelt. In concentrirter Salzsäure werden sie unter Bildung von Acidalbumin und Pepton gelöst. Bei Behandlung mit Aetzkali verwandeln sie sich in Albuminate. Ihre Lösungen in Essigsäure werden schon kalt durch concentrirte Salzlösungen gefällt, sind aber dann wahrscheinlich bereits in Acidalbumin verwandelt.

VI. Amyloide Substanz.

182. Mit dem Namen amyloide Substanz hat Virchow einen Körper bezeichnet, der nur pathologisch in feinen, concentrisch schaligen Körnchen häufig an dem serösen Ueberzuge der Hirntheile und Nervenanfänge oder als glasglänzende Infiltration in den verschiedensten Organen, Leber, Milz, Nieren u. s. w. Ablagerungen bildet, sich oft dabei als Infiltration der Blutgefässwandungen zeigt und meist einen wesentlichen Theil der Prostatasteinchen ausmacht. Dieser Körper, bisher nur mangelhaft aus den ihn umgebenden Gewebstheilen isolirt, enthält nach C. Schmidt*) 15,56 pCt. N. und besitzt nach Friedreich und Kekulé**) die Zusammensetzung C 53,6, H 7,0, N 15,0, S + O 24,4 pCt. (Kühne und Rudneff fanden in gut gereinigtem Amyloid N 15,53 und S 1,3 pCt.), stimmt also in derselben mit den Albuminstoffen überein und unterscheidet sich von den coagulirten Albuminstoffen, abgesehen von der Unlöslichkeit im Magensaft, nur im Wesentlichen dadurch, dass er von Jod röthlich, durch Schwefelsäure und Jod violett bis blau gefärbt wird. Concentrirte Salzsäure löst die amyloide Substanz auf, die Lösung giebt mit Wasser verdünnt einen Niederschlag,

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 110. S. 250.
**) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 16. S. 50.

der ganz das Verhalten des salzsauren Acidalbumin zeigt. Durch Lösen in Alkalilauge erhält man aus der amyloiden Substanz ein Albuminat.

Zur Darstellung der amyloiden Substanz benutzt man sehr stark infiltrirte Drüsen, besonders Leber oder Milz, extrahirt dieselben nach guter Zerkleinerung und Entfernung von Gefässen und Gallengängen mit kaltem Wasser, kocht einige Zeit mit Wasser, um das Bindegewebe zu lösen, kocht den Rückstand mit Alkohol und Aether zur Auflösung von Fetten und Cholesterin und behandelt die rückständige Masse, welche elastische Fasern neben amyloider Substanz enthält, nach Kühne*) mit Magensaft nach vorherigem Auskochen mit salzsäurehaltigem Alkohol.

Als Kennzeichen der amyloiden Substanz dient ausser ihrer Unlöslichkeit in Wasser, Aether, Alkohol und verdünnten Säuren die Jodreaction, die bei grösseren Infiltrationen mit unbewaffnetem Auge erkannt wird, und die Veränderung der Färbung durch Jod nach Zusatz starker Schwefelsäure.

VII. Acidalbumine.

183. Acidalbumine (von Rollett Albuminid genannt) entstehen**):

1) Bei der Einwirkung von sehr verdünnter Salzsäure (0,1 bis 0,5 pCt. HCl) auf Albumine oder Globuline.

2) Bei der Einwirkung von saurer Pepsinlösung auf native oder coagulirte Eiweissstoffe, Fibrin.

3) Bei der Lösung irgend eines Albuminstoffs, oder Chondrin, Blutfarbstoff in concentrirter Salzsäure, starker reiner Salpetersäure, Schwefelsäure.

4) Bei der Behandlung der Albumine oder Globuline mit verschiedenen Salzen schwerer Metalle, z. B. Eisenchlorid, Quecksilbernitrat, Platinchlorid.

Von allen diesen Acidalbuminen, deren Unterscheidung noch nicht genügend bearbeitet ist, ist nur das Syntonin, aus Muskeln gewonnen, eingehender untersucht. Im Verhalten gegen Säuren oder Alkalien oder neutralen Salzlösungen stimmen sie im Wesentlichen alle überein; auch geben sie alle bei der Behandlung mit Kalkwasser, Ammonium-

---

*) Arch. f. path. Anat. Bd. 33.

**) Panum, Arch. f. path. Anat. Bd. 4. S. 419. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 3. S. 424. Soyka, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 12. S. 347. Mörner, ebendas. Bd. 17. S. 468. Rollett, Wien. Acad. Sitzungsber. Bd. 84. 21. Juli 1881.

chlorid und Essigsäure (vergl. oben Myosin) myosinähnliche Körper. Alle sind in Wasser unlöslich und werden durch Einwirkung von Aetzkali oder Kalkmilch, in der Wärme auch durch Alkalicarbonat in Albuminate übergeführt. Verschiedenheiten sind bei ihnen bis jetzt hervorgetreten 1) in der Quantität von Ammoniak, welche bei ihrem Kochen mit gesättigter Aetzbarytlösung entwickelt wird (Nasse), 2) in den spec. Drehungen, 3) in der procentischen Zusammensetzung, besonders im Stickstoffgehalte.

Nach Mörner löst sich Syntonin nicht in Natriumdiphosphat, die andern Acidalbumine lösen sich darin. Die einen Acidalbumine sind frisch gefällt mehr gallertig als andere; am Voluminösesten ist das Syntonin. Einige weitere Unterschiede sind von Mörner und Rollett bezeichnet. Die Unterschiede der Acidalbumine und der Albuminate siehe unten bei den Albuminaten.

184. Syntonin, C 54,1, H 7,3, N 16,1, S 1,1, O 21,5 pCt., entsteht durch Behandlung von Myosin oder Muskelsubstanz mit genügendem Ueberschusse einer sehr verdünnten Salzsäure (0,1 pCt. HCl). Die filtrirte Lösung giebt das Syntonin als gallertig flockigen Niederschlag bei ihrer Neutralisation mit Na_2CO_3 oder NH_3 oder nach Zusatz von Natriumacetat und sorgfältigem Auswaschen des Niederschlags mit Wasser. Syntonin bildet eine gallertige Masse, die frisch gefällt in Wasser unlöslich ist, aber in verdünnter Salzsäure oder verdünnter Lösung von Na_2CO_3 sich leicht löst, unlöslich ist in neutralen Lösungen der Alkalisalze. Beim Stehen unter Wasser erleidet es eine Veränderung, indem es sich dann nicht mehr in sehr verdünnter Salzsäure auflöst. Durch Erwärmen mit einprocentiger Natronlauge auf 30—40° wird es dann in Syntonin zurückgeführt nach Danilewski, und durch Lösen in Kalkwasser, nachherigen Zusatz von Chlorammonium fast bis zur Sättigung der Lösung und sehr schwaches Ansäuern mit Essigsäure geht es in Myosin oder eine dem Myosin sehr ähnliche Globulinsubstanz über. Durch Behandlung mit starker Alkalilauge wird es schnell in Alkalialbuminat umgewandelt. Die Lösung des Syntonin in möglichst wenig Kalkwasser giebt theilweise Coagulation beim Kochen. Alkalialbuminat wird durch Säure nicht wieder in Syntonin zurückverwandelt.

In der Lösung in sehr verdünnter Salzsäure zeigt das Syntonin unabhängig vom Concentrationsgrade der Flüssigkeit eine specifische Drehung für gelbes Licht ungefähr —72° und ziemlich die gleiche specifische Drehung zeigt seine Lösung in Natriumcarbonat.

VIII. Hemialbumose oder Propepton.

185. Die von Meissner α-Pepton, von Kühne Hemialbumose*), von Schmidt-Mülheim**) Propepton genannte, wie es scheint noch nicht analysirte Substanz, entsteht bei der Pepsinverdauung als Zwischenglied zwischen Acidalbumin (Parapepton nach Meissner) und Pepton und wird rein gewonnen durch Sättigung der verdauten Lösung mit Calciumcarbonat, Verdampfen auf kleines Volumen, Sättigung der Flüssigkeit mit NaCl durch eingestellte aus der Flüssigkeit hervorragende Steinsalzstücke, Filtration und Fällung des Filtrats mit Salzsäure, so lange zäher flockiger Niederschlag entsteht, zugleich fällt etwas NaCl als sandiges Krystallpulver aus. Der abfiltrirte Niederschlag wird in Wasser gelöst, abermals mit Steinsalz gefällt, abgepresst, in wenig Wasser gelöst, mit Alkohol gefällt, wieder in Wasser gelöst, nochmals mit Alkohol gefällt, dann mit absolutem Alkohol gewaschen und sogleich über Schwefelsäure mit der Luftpumpe getrocknet. In dieser Weise dargestellt bildet das Propepton ein zartes weisses aschefreies Pulver, sehr leicht in Wasser mit neutraler Reaction löslich, fällbar aus sehr verdünnter Lösung in der Kälte nicht bei 100° durch Salpetersäure, fällbar durch Essigsäure oder Salzsäure und Ferrocyankalium, ebenso (wie aus der Darstellung erhellt) durch diese Säuren und Sättigung der Lösung mit neutralen Salzen, wie Chlornatrium, Magnesiumsulfat u. s. w. Es ist auch fällbar durch vorsichtigen Zusatz von Metaphosphorsäure. Durch diese Fällungen ist das Propepton unterschieden von Pepton, welches mit allen diesen Fällungsmitteln keinen Niederschlag giebt, mit dem Propepton aber die Löslichkeit in Wasser in allen Verhältnissen, ferner die Violettfärbung sofort bei gewöhnlicher Temperatur mit Natronlauge und einem Tropfen Kupfersulfat (Biuretreaction) gemein hat.

Sowohl durch seine Entstehung als durch sein Verhalten gegen Säure und Ferrocyankalium oder gesättigte Salzlösung und gegen Salpetersäure schliesst es sich an die Acidalbumine an, wird auch wie diese durch das Aetzalkali oder Kalkmilch in ein Alkalialbuminat leicht umgewandelt, dessen Calciumverbindung durch CO_2 nicht zerlegt wird.

*) Verhandl. d. naturhist. Vereins zu Heidelberg. Bd. 1. Heft 4.

**) Arch. f. Anat. u. Physiol. (Physiol. Abtheil.) 1880. S. 36. Jahresber. d. Thierarzneischule in Hannover 1879/80. Salkowski, Arch. f. path. Anat. Bd. 81, S. 552.

In neutraler Lösung wird das Propepton durch Sättigung mit Steinsalz nicht gefällt, da aber die mit Magensaft verdaute Lösung der Albuminstoffe nicht wenig von einem solchen Körper enthält (der wahrscheinlich durch die Anwesenheit von Propepton und Pepton in Lösung erhalten wird, sich aber in Wasser nicht löst) ist es nöthig, die mit Calciumcarbonat gesättigte Verdauungslösung erst mit Steinsalz zu sättigen und zu filtriren, ehe Säure zugesetzt wird. Das käufliche Witte'sche Pepton enthält viel von diesem Körper neben gleichfalls viel Propepton.

Weder bei der Pankreasverdauung noch bei der Fäulniss scheint Propepton in wesentlicher Menge gebildet zu werden.

IX. Albuminate.

186. Alle Albuminstoffe mit Ausnahme der Peptone geben bei ihrer Behandlung mit starker Kali- oder Natronlauge unter bedeutender Steigerung der spec. Rotation nach links Körper, welche den Eiweissstoffen noch zugehören, durch Säuren ausgefällt werden können, etwas löslich in Wasser auch in Alkohol sind, ihren Lösungen saure Reaction verleihen, Carbonate unter Austreibung von CO_2 zerlegen, auch leicht in verdünnten Mineralsäuren, schwerer in Essigsäure löslich sind, in neutralen Salzlösungen nicht gelöst werden, aus den sauren oder alkalischen Lösungen durch reichlichen Zusatz neutraler Salze ausgefällt werden, bei der Behandlung mit Pepsin in saurer oder mit Trypsin in ziemlich neutraler Lösung in Pepton übergeführt werden.

Diese Körper sind allgemein als Albuminate*) oder Alkalialbuminate bezeichnet, Rollett schlägt für sie den Namen Albuminin vor.

Mit starken Säuren behandelt gehen die Albuminate nicht in Acidalbumin über. Nach Lieberkühn's Analysen entspricht das aus Eieralbumin gewonnene Albuminat der Zusammensetzung $C_{74}H_{114}N_{18}S_1O_{23}$ entsprechend dem Procentgehalte C 53,59, H 6,95, N 15,63, S 1,99, O 21,84 pCt. Das Albuminat ist nach dieser Formel als 2basische Säure anzusehen.

Nach Mörner zeigen Albuminate und Acidalbumine folgende Unterschiede: die Neutralisationsniederschläge der Acidalbumine sind gallertig, die der Albuminate nicht. Die letzteren sind etwas löslich

*) Lieberkühn, Pogg. Ann. Bd. 86. S. 118. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 3. S. 424. Soyka, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 12. S. 347. Mörner, ebendas. Bd. 17. S. 468. Rollett, Wien. Acad. Sitzungsber. Bd. 84. Abth. III.

in Wasser, die ersteren nicht. Albuminate treiben in Wasser zertheilt CO_2 aus Calcium-, Strontium, Bariumcarbonat aus und lösen sich in Verbindung mit diesen Metallen, die Acidalbumine dagegen treiben keine CO_2 aus und lösen sich nicht. Albuminat löst sich in nicht überschüssigem Kalkwasser mit saurer, Acidalbumin mit alkalischer Reaction. Möglichst alkaliarme Lösung von Albuminat über 100° im zugeschmolzenen Rohre erhitzt giebt Coagulation, eine solche Lösung von Acidalbumin gerinnt hierbei nicht. Albuminatlösungen in Alkali werden durch allmälig zugesetzte Säure gefällt schon bei saurer, Acidalbumin bei noch alkalischer Reaction. Durch saures Natriumphosphat wird in Dinatriumphosphat gelöstes Albuminat schwerer gefällt als Acidalbumin.

Die Rotation der Polarisationsebene nach links ist bedeutender durch die Alkalialbuminate, als die der andern bis jetzt untersuchten Albuminstoffe mit Ausnahme der gleichfalls den Albuminaten zu zuzählenden Caseine. Serumalbumin zeigt bei Behandlung mit starker Kalilauge eine Steigegung der spec. Drehung auf —86°, Eieralbumin auf —47°, coagulirtes Eieralbumin auf —58,8° für gelbes Licht.

X. Caseine.

187. Caseine sind bis jetzt nur gefunden in Hautsecreten: Milch, Hauttalg, Secret der Burzeldrüsen von Vögeln. Nach Makris*) hat das Casein der menschlichen Milch die Zusammensetzung C 52,35, H 7,27, N 14,65, S + O 25,73 pCt., das der Kuhmilch C 53,62, H 7,42, N 14,20, S + O 24,76 pCt. Aus der neutralen oder alkalischen Menschenmilch wird das Casein durch vollständige Sättigung mit Magnesiumsulfat, aus der Kuhmilch einfacher durch Verdünnen mit 9 Vol. Wasser und vorsichtigen Zusatz von Essigsäure bis zur flockigen Fällung abgeschieden. Die gefällte flockige zusammenbackende Masse wird mit Wasser gewaschen, dann in Wasser zertheilt, durch vorsichtigen Sodazusatz gelöst, filtrirt und wieder mit Essigsäure gefällt und diese Lösung und Fällung, Waschen mit Wasser mehrmals wiederholt. Schliesslich wird der durch Essigsäure erhaltene Niederschlag erst mit Wasser, dann mit Alkohol und Aether und zuletzt mit absolutem Alkohol ausgewaschen und nun schnell über Schwefelsäure mit der Luftpumpe getrocknet. Das Casein so dargestellt ist

*) C. Makris, Studien über d. Eiweisskörper der Frauen- und Kuhmilch. Diss. Strassburg 1876.

ein zartes weisses Pulver. Das Casein der Kuhmilch ist etwas löslich in Wasser, auch in kaltem Alkohol, reichlicher in heissem Alkohol; die Lösungen zeigen saure Reaction und werden gefällt durch Abdampfen der Lösungen auf sehr kleines Volumen, durch Essigsäure und Ferrocyankalium, Sättigung mit Magnesiumsulfat oder Chlorcalcium. In Sodalösung oder Barytwasser, Kalkwasser löst sich Casein leicht auf und diese Lösungen können besonders bei Anwesenheit von NaCl oder KCl ziemlich stark mit Essigsäure angesäuert werden, ehe ein Niederschlag entsteht. Löst man Kuhmilchcasein in Wasser durch Zusatz einer genügenden Menge von Kalkwasser, neutralisirt dann mit verdünnter Phosphorsäure oder säuert mit derselben an, so erhält man eine milchig trübe Flüssigkeit, die auch trübe filtrirt, nach nicht zu starkem Ansäuern auch beim Kochen nicht gerinnt, aber durch Zusatz von neutralisirter Lablösung zur baldigen Gerinnung gebracht wird*). Bei dieser Gerinnung geht das Casein in einen andern Albuminstoff (von Hammarsten „Käse“ genannt) über, welcher in Wasser weniger löslich ist, in Salzlösung durch sehr schwaches Ansäuern mit Essigsäure gefällt wird, aus der Lösung mit Kalkwasser nach Neutralisation mit Phosphorsäure durch Lab nicht zur Gerinnung gebracht wird. Reibt man Casein mit Wasser und $CaCO_3$ zusammen, so verbindet sich Casein mit Calcium unter Austreibung der CO_2. Durch Einleiten von CO_2 in eine Lösung der Calciumverbindung des Casein wird eine Abtrennung des Calcium nicht bewirkt, das Casein wirkt also wie auch die künstlichen Alkalialbuminate wie eine Säure stärker als CO_2. Wird Casein aus einer wässrigen Lösung durch eine Säure ausgefällt, so wird ein wenig von der Säure hartnäckig beim Auswaschen des Casein zurückgehalten, befindet sich also wahrscheinlich in chemischer Verbindung mit demselben. Behandlung mit starker Säure oder viel Alkali oder Stehen des mit Säure gefällten Casein unter Wasser verändern dasselbe vollkommen, so dass es keine Gerinnung mit Lab mehr giebt.

Aus der Milch durch Magnesiumsulfat ausgefällt, durch Aether von Fett befreit, dann in Wasser gelöst, zeigt das Casein spec. Drehung -80^{0}, in schwach alkalischer Lösung -76^{0}, in sehr verdünnter Lösung -87^{0}, in stark alkalischer -91^{0}. Das Casein aus der Kuhmilch gewonnen enthält ein Nuclein, welches bei seiner Spaltung Phosphorsäure, aber kein Hypoxanthin liefert.

*) Hammarsten, Jahresber. d. Thierchemie. 1874. S. 145 u. 1877. S. 158.

Das Casein der Menschenmilch ist weniger löslich in Wasser sowie in Alkohol als das Kuhcasein. Seine Gerinnung mit Lab gelingt nur sehr unvollkommen.

Die von Millon und Comaille aus der Kuhmilch mit salpetersaurem Quecksilberoxyd gefällte Substanz, der sie den Namen Lactoproteïn gegeben haben, ist in der Hauptsache in Lösung gebliebenes Casein; zugleich mit demselben wird ein wenig Pepton gefällt, von dem jedoch die frische Milch nur eine sehr geringe Spur enthält.

XI. Peptone.

188. Sämmtliche Albuminstoffe (mit Ausnahme von der amyloiden Substanz) werden durch sauren Magensaft oder bei ziemlich neutraler Reaction durch Pankreasauszug in Peptone verwandelt; sämmtliche Albuminstoffe ohne Ausnahme geben bei der Fäulniss, ebenso bei der Behandlung mit starker Mineralsäure oder mit starker Aetzalkalilösung Peptone. Verdünnte Säuren oder Alkalien wirken in der Siedetemperatur langsam in gleicher Weise, auch die Einwirkung der concentrirten Alkalien oder Säuren erfolgt allmälig und um so schneller, je höher die Temperatur ist. Stets ist die Bildung der Peptone aus Eiweissstoffen ein Durchgangsstadium der Zersetzung, dem die Bildung von Leucin, Tyrosin und anderer Amidosäuren folgt und dem bei Einwirkung von Säuren oder Magensaft die Bildung von Acidalbumin, dann Propepton, bei Einwirkung von Pancreasauszug oder Fäulniss die Bildung von Globulin vorausgeht. Die Bildung der Peptone aus anderen Albuminstoffen beruht auf einer Aufnahme der Elemente von Wasser in chemische Verbindung. Demgemäss nimmt 1) das Gewicht der Albuminstoffe beim Uebergang in Pepton zu*), findet 2) eine Rückführung der Peptone bei Behandlung mit Essigsäureanhydrid oder beim Erhitzen auf 140—170^0 unter Austritt von Wasser zu Propepton oder Acidalbumin statt**) und ist 3) die Sättigungscapacität der Peptone durch Basen und Säuren grösser als die irgend eines andern Albuminstoffs***).

Zur Darstellung von Pepton†) aus Flüssigkeiten, welche noch

---

*) Danilewski, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1880. No. 42.

**) Henninger, Compt. rend. T. 86. p. 1464 u. De la nature et du rôle physiologique des peptones. Paris 1878. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2. S. 206. Danilewski, Centralbl. f d. med. Wiss. 1880. No. 42.

***) Lehmann in L. Gmelin, Handbuch d. Chemie. Bd. 8 S. 34. Lubavin in Hoppe-Seyler, Med. chem. Mittheilungen. Heft 4. S. 463. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 58. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 21. S. 179.

†) Diese Vorschriften sind zum nicht geringen Theil von Hofmeister zuerst gegeben, vergl. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 253.

andere Eiweissstoffe enthalten, sind letztere zunächst vollständig zu entfernen, und zwar zuerst die neutralisirte Flüssigkeit zu kochen, zu filtriren und die noch in Lösung befindlichen Reste von Acidalbumin und Propepton oder Alkalialbuminat zu fällen, entweder 1) durch Sättigung der Lösung mit Steinsalz und Ausfällung mit etwas concentrirter Essigsäure oder Salzsäure und nöthigenfalls (wenn die Flüssigkeit nicht ganz klar ist) mehrfacher Filtration, oder 2) Kochen der mit Essigsäure schwach angesäuerten Lösung mit essigsaurem Eisenoxyd unter Zusatz von etwas Natriumacetat (oder Bleiacetat Hofmeister), die Flüssigkeit ist so lange im Sieden zu erhalten bis das Eisenoxyd vollständig ausgefällt ist, oder 3) Kochen mit etwas Bleioxydhydrat oder Bleicarbonat oder Zinkcarbonat und Filtration. Die von diesen Albuminstoffen völlig befreite Lösung darf durch Salpetersäure oder durch Essigsäure und Ferrocyankalium keine Trübung geben und nach 24 Stunden kein'en flockigen Niederschlag bei dieser Prüfung ergeben. Zu diesen Proben ist die nach 1) mit NaCl gesättigte Lösung mit Wasser zu verdünnen, weil sonst Ferrocyankalium keinen Niederschlag giebt, auch wenn noch Propepton zugegen ist. Enthält die nach der einen oder andern dieser Methoden gereinigte Lösung Pepton, so nimmt eine Probe derselben mit Natronlauge und einem Tropfen Kupfersulfat versetzt, sofort eine deutliche violette Farbe an. Man säuert dann sehr stark mit Salzsäure an und fällt mit Phosphorwolframsäure so lange Niederschlag entsteht, filtrirt und wäscht den Niederschlag mit 3—5 pCt. schwefelsäurehaltigem Wasser sorgfältig aus, zertheilt dann den Niederschlag in Wasser und fügt concentrirte Aetzbarytlösung unter gutem Umrühren bis zur bleibenden stark alkalischen Reaction hinzu, filtrirt, fällt den Ueberschuss des Baryt mit einem Strom CO_2, dampft die filtrirte Flüssigkeit auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen ein und fällt den in der Lösung noch vorhandenen Baryt durch vorsichtigen Zusatz von Schwefelsäure, so lange Niederschlag entsteht, filtrirt, dampft bei mässiger Wärme auf sehr kleines Volumen ab, fällt mit sehr grossem Ueberschuss von 96 procentigem Alkohol, sammelt den Niederschlag auf einem Filter, wäscht mit reinem Alkohol und trocknet sofort mit der Luftpumpe über Schwefelsäure. Man erhält auf diese Weise das Pepton als zartes leichtes weisses Pulver. Enthält dasselbe noch wesentliche Quantität Asche, so ist das Pepton in Wasser zu lösen, und die Fällung mit Phosphorwolframsäure etc. zu wiederholen.

Peptone (ob es mehre Eiweisspeptone giebt, ist noch nicht ge-

nügend festgestellt) sind in Wasser äusserst leicht löslich, kaum löslich in absolutem Alkohol, aber ziemlich löslich in Weingeist, unlöslich in Aether, sie sind fällbar weder durch Säuren (auch nicht durch Metaphosphorsäure) noch Alkalien, noch alkalische Erden, ferner nicht fällbar durch Säure und Ferrocyankalium oder Säure und Sättigung mit Chlornatrium, dagegen fällbar durch Bleiessig und Ammoniak, durch Jodquecksilberjodkalium oder Jodwismuthjodkalium und Salzsäure, auch fällbar durch salpetersaures Quecksilberoxyd, und durch Gerbsäure. Ihre wässrige Lösung reagirt sauer. Salpetersaures Silberoxyd wird von ihnen in wässriger Lösung allmälig reducirt. Von Kossel*) wurde nachgewiesen, dass die durch Behandlung mit Silberoxyd früher dargestellten und analysirten Präparate von Pepton Zersetzungsproducte enthielten und zu geringen Kohlenstoff neben zu hohem Sauerstoffgehalt besassen. Die Peptone verbinden sich mit Säuren und mit Basen; diese Verbindungen sind grossentheils in Wasser sehr löslich und werden durch Dialyse mit viel Wasser zerlegt. Von Kossel ist eine durch absoluten Alkohol gefällte und gewaschene Verbindung von Pepton (aus Fibrin gewonnen) mit Chlor und Calcium von der Zusammensetzung C 45,13, H 6,23, N 13,96, S 1,07, O 25,57, Cl 2,34, Ca 5,68 pCt. analysirt. Die Calcium- oder Bariumverbindungen von Pepton werden durch andauernden Strom von CO_2 nicht zerlegt, vielmehr treibt Pepton in wässriger Lösung aus Calcium- oder Bariumcarbonat schon bei gewöhnlicher Temperatur CO_2 aus. Analysen von Peptonen durch Dialyse gereinigt sind zahlreich ausgeführt, da aber beim Trocknen über 100° allmälig Wasser entweicht und stets über 100° die Präparate getrocknet waren, ist es fraglich, ob die Analysen den richtigen Ausdruck für die Zusammensetzung der Peptone geben. Es ist gefunden in Peptonen aus Fibrin von

	C	H	N	
Maly**)	51,40	6,95	17,13	im Mittel
Henninger***)	51,43	7,05	16,66	„ „
Kossel†)	49,69	6,96	—	

Für Pepton des Eieralbumin ist von Herth††) höherer Kohlenstoff-

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 13. S. 309.
**) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 9. S. 585.
***) a. a. O.
†) a. a. O.
††) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. S. 277.

gehalt gefunden, aber immerhin geringerer als die Analysen des Eieralbumins selbst ergeben haben.

Die ausgeführten Bestimmungen der spec. Rotationen des polarisirten Lichtes ergeben weitere Unterschiede der Peptone. Danilewski*) unterscheidet mehrere Peptone der Pepsinverdauung sowie der Trypsinwirkung und hat beobachtet, dass man nicht allein auf verschiedenem Wege Peptone in andere Eiweissstoffe zurückführen kann, sondern dass sie sogar beim Stehen in syrupöser Lösung theilweise spontan in jene zurückkehren.

Zum Nachweis der Peptone dient gewöhnlich die Violettfärbung durch Natronlauge und eine Spur Kupfersulfat in der Kälte. Ist die Flüssigkeit gefärbt, so wird meist Kochen derselben mit etwas Bleicarbonat, Entfernung des Bleies im Filtrat durch Schwefelwasserstoff und Eindampfen zur Austreibung des SH_2 genügen. Am zweckmässigsten bleiben immerhin die oben beschriebenen Methoden der Darstellung des Peptons.

Protsäure hat Limpricht**) einen amorphen Körper von der Zusammensetzung der Albuminstoffe genannt, den er im Wasserextracte des Fleisches vom Plözen (Leuciscus rutilus) fand, als er zum abgedampften und von phosphorsauren Salzen und Kreatin befreiten syrupösen Extracte eine geringe Menge Schwefelsäure hinzufügte. Die flockig ausfallende Protsäure war schwer löslich in Wasser, sehr leicht löslich in Alkalien. Das Barytsalz enthielt 6,5 pCt. Ba. Die essigsaure Lösung wurde durch Ferrocyankalium nicht gefällt. Weder im Fleische anderer Fische noch in dem warmblütiger Thiere wurde dieser Körper aufgefunden.

Proteïde.

Körper, welche durch Spaltung neben anderen Stoffen Eiweissstoffe liefern.

Blutfarbstoffe.

189. Oxyhämoglobine und Hämoglobine***) bilden die Hauptmasse der rothen Blutkörperchen der Wirbelthiere, finden sich gelöst in

---

*) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1881. No. 4 u. 5. Bibl. univers. de Genève, Arch. des sc. phys. et nat. (3) T. VII. No. 4. p. 305. 1882.

**) Ann. Chem. Pharm. Bd. 127. S. 188.

***) Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuchungen. Tübingen. Heft 2 und 3. 1867 und 1868; ausserdem Preyer in Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. 1868. S. 395, auch Heynsius, Onderzoekingen gedaan in het physiol. Labor. der Leidsche Hoogschool. Leiden 1869.

einigen Muskeln von Säugethieren in sehr geringer Menge, ebenso gelöst in Muskeln und im Blute einiger Avertebraten, z. B. des Regenwurms.

Aus dem Blute eines jeden Wirbelthieres kann man Hämoglobin in amorphem Zustande gewinnen, aus dem Hunde-, Katzen-, Igel-, Hamster-, Meerschweinchen-, Ratten-, Gänse- u. s. w. Blut erhält man es auch krystallisirt; nur schwierig aus Menschenblut.

Zur Darstellung möglichst reiner Oxyhämoglobinkrystalle mischt man das defibrinirte Blut mit dem mindestens 10fachen Volumen einer Kochsalzlösung, welche auf 1 Volumen gesättigte Lösung 9 bis 19 Volumen Wasser enthält, lässt ein oder zwei Tage an einem kühlen Orte ruhig stehen, so dass der grösste Theil der Blutkörperchen sich zu Boden senkt, giesst dann soweit als möglich die Flüssigkeit vom Niederschlage ab, bringt letzteren mit nicht zu viel Wasser in einen Kolben, giesst etwa eben so viel Aether hinzu, schüttelt das Ganze gut um, giesst nach kurzem Stehen den Aether ab, filtrirt möglichst schnell durch ein Faltenfilter, mischt das Filtrat nach dem Abkühlen auf 0° mit $^{1}/_{4}$ seines Volumen Weingeist, der gleichfalls auf 0° erkaltet war, und lässt bei —5° bis —10° einige Tage stehen. Ratten-, Meerschweinchen-, Eichhörnchen- und Hundeoxyhämoglobinkrystalle bilden sich meist beim Schütteln der Blutkörperchen mit Aether so schnell, dass beim nachherigen Filtriren ein Theil derselben auf dem Filter bleibt; zeigt dies die mikroskopische Untersuchung, so löst man dieselben durch Digestion mit nicht zu viel Wasser bei etwa 35° im Wasserbade, filtrirt dann schnell, lässt auf 0° erkalten, fügt $^{1}/_{4}$ Volumen kalten Weingeist hinzu und lässt kalt stehen. Auf diese Weise ist man auch im Stande, die gebildeten kalt abfiltrirten und ausgepressten Krystalle mehrmals umzukrystallisiren.

Die Krystalle der Oxyhämoglobine sind meist mikroskopisch, sehr selten über eine Linie lang, von verschiedener Form, je nach der Thierspecies, aus deren Blute sie gewonnen sind. Die Krystalle der Truthühner sind, wie es scheint, allein regulär, oft ziemlich grosse Würfel mit seltenen Octaëderflächen; die des Eichhorns sind sechsseitige Tafeln des hexagonalen Systems, die Tetraëder oder Octaëder des Meerschweinchen- und Rattenblutes scheinen dem rhombischen Systeme zuzugehören, die Krystalle des Hundeblutes (meist lange vierseitige Prismen) und die rhombischen Tafeln des Gänsehämoglobin sind rhombisch oder monoklinoëdrisch. Ebenso wie in der Form unterscheiden sich die Krystalle verschiedener Blutarten auch im Gehalte an Krystallwasser und in der Zusammensetzung; im Mittel

sind nämlich folgende Werthe für sie gefunden (das Krystallwasser auf die mit der Luftpumpe getrockneten Krystalle berechnet, im Uebrigen auf die getrocknete Substanz bezogen*).

	Krystallwasser	C	H	N	O	S	Fe	P_2O_5
Krystalle vom Hunde	3—4 pCt.	53,85	7,32	16,17	21,84	0,39	0,43	—
„ von der Gans**)	7 „	54,26	7,10	16,21	20,69	0,54	0,43	0,77
„ vom Meerschweinchen	6 „	54,12	7,36	16,78	20,68	0,58	0,48	—
„ vom Eichhörnchen	9,4 „	54,09	7,39	16,09	21,44	0,40	0,59	—
„ vom Pferd***)	— „	54,87	6,97	17,31	19,73	0,65	0,47	—
„ vom Schwein†)	5,9 „	54,17	7,38	16,23	21,36	0,66	0,43	—

Auch in der Löslichkeit im Wasser zeigen die Krystalle verschiedener Blutarten erhebliche Verschiedenheiten; am Schwierigsten lösen sich die des Meerschweinchen- und des Rattenblutes, leichter die des Eichhörnchen-, dann folgen die des Hundeblutes und am Leichtesten löslich, daher auch am Schwierigsten darzustellen sind die Krystalle der Vogelblutarten. Während aus diesen Verschiedenheiten der Zusammensetzung sich ergiebt, dass die Krystalle der einzelnen Blutarten verschiedene Körper sind, zeigen dieselben doch in anderen chemischen und physikalischen Eigenschaften wieder so grosse Uebereinstimmung, dass man sie als nahe zusammengehörig ansehen muss.

Die Krystalle sowie ihre wässerigen Lösungen enthalten lose gebundenen Sauerstoff, welcher durch die Luftpumpe und Erwärmen ausgetrieben werden kann, leichter aus der Lösung als aus den Krystallen. Dieser Sauerstoff ist mit dem Hämoglobin in chemischer Verbindung, die Substanz der Krystalle kann daher zum Unterschiede von dem von lose gebundenem Sauerstoff befreiten Körper als Oxyhämoglobin bezeichnet werden. Nach der Entfernung dieses Sauerstoffs zeigen die Blutfarbstoffe sämmtlich viel grössere Löslichkeit in Wasser und krystallisiren entweder gar nicht oder sehr schwer, die Krystallisation tritt dann schnell ein, wenn zur concentrirten Lösung etwas Sauerstoff hinzutritt. Ein Gramm Hämoglobin nimmt hierbei nach meinen Bestimmungen††) 1,68, nach denen von Hüfner†††) 1,59 Ccm. O_2 von 0° und 760 Mm. Druck auf.

---

*) Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuchungen. Heft 3. S. 370. 1868.

**) Der Phosphorsäuregehalt der Gänsekrystalle rührt wahrscheinlich von Nuclein aus den Kernen her, welches in der Farbstofflösung gelöst mit den Krystallen sich ausscheidet

***) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2. S 149.

†) Otto, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7. S. 57.

††) Physiologische Chemie. Berlin 1881. S. 382.

†††) Zeitschr. f. physiol. Chem Bd. 1. S. 317 u. 386. Bd. 6. S. 94.

Die Krystalle sowie ihre Lösungen haben schön blutrothe Farbe, nach dem Trocknen geben sie ein ziegelrothes Pulver, absorbiren am Wenigsten das Licht vom Anfang des Spectrum bei Roth bis zu ¼ des Spectralabschnittes zwischen den Linien C und D des Sonnenspectrum. Das letzte an der Linie D anliegende Viertel dieses Raumes zwischen C und D wird schon viel stärker absorbirt; treibt man jedoch durch einen Strom Kohlensäure oder besser Wasserstoff den Sauerstoff aus, so absorbirt die Lösung das Licht von a bis B am Wenigsten, alles übrige Licht wird viel kräftiger absorbirt als durch sauerstoffhaltige Hämoglobinlösungen und selbst dieses Licht zwischen a und B wird von den Oxyhämoglobinlösungen viel weniger als von gleichconcentrirten Lösungen der reducirten Hämoglobine absorbirt.

Auf diesen optischen Verhältnissen beruht ohne Zweifel die Aenderung der Farbe nnd Durchsichtigkeit des Blutes und wässeriger Blutlösungen, wenn sie aus dem venösen Zustande in den arteriellen übergeführt werden und umgekehrt. Das frisch aus der Vene entnommene Blut von Thieren zeigt starke Absorption des Lichtes von B bis über C hinaus im Spectrum, welche sogleich verschwindet, wenn man das Blut mit Luft schüttelt.

Verdünnt man eine concentrirte Oxyhämoglobinlösung mit Wasser, so zeigt dieselbe immer in gleicher Dicke der Schicht untersucht (vergl. § 17) schnelle Aufhellung bis zur Fraunhofer'schen Linie D, bald tritt dann auch Licht zwischen E und F im Grün auf; beim weiteren Verdünnen breitet sich das Spectrum über F hin aus, während zugleich etwa in der Mitte zwischen D und E ein heller gelbgrüner Streifen erscheint; beim fortgesetzten Verdünnen erscheint allmälig das ganze Spectrum bis zum Violett und nur die in der Spectraltafel Fig. 10 No. 1 am Ende von § 191 dargestellten Absorptionsstreifen bleiben noch beim Verdünnen bis zum Gehalte von 1 Grm. Hämoglobin in 10000 CC. Flüssigkeit deutlich sichtbar, wenn man diese Lösung in der Dicke von 1 Cm. Flüssigkeitsschicht im Spectralapparate mit Sonnenlicht untersucht. Der näher bei D liegende Streifen ist dunkler und schärfer begrenzt als der andere und verschwindet schliesslich beim fortgesetzten Verdünnen ein wenig später als der andere. Lässt man eine passend verdünnte Blutlösung verschlossen einige Zeit stehen, oder fügt man zu ihr einige Tropfen Schwefelammonium oder einer ammoniakalischen Lösung von weinsaurem Zinnoxydul oder weinsaurem Eisenoxydul oder anderer in

alkalischen Flüssigkeiten stark reducirend wirkender Substanzen, so verschwindet allmälig die arterielle Färbung der Lösung und bei ihrer Untersuchung im Spectrum zeigt sich der helle Zwischenraum zwischen den obigen beiden Streifen verschwunden, die Streifen selbst werden blasser und es bildet sich das in Fig. 10 No. 2 in § 191 dargestellte Spectrum des Hämoglobin, charakterisirt durch ein breites schlecht begrenztes Absorptionsband, dessen dunkelstes Feld etwa die Mitte zwischen D und E einnimmt, zugleich erweist sich das Blau viel weniger absorbirt als in einer gleichconcentrirten Oxyhämoglobinlösung. Schüttelt man eine solche Lösung von reducirtem Hämoglobin nur kurze Zeit mit Sauerstoff oder Luft, so treten sofort die beiden Streifen des Oxyhämoglobin im Spectrum wieder auf, verschwinden aber bald von Neuem, wenn noch reducirende Substanz vorhanden ist.

190. Unter 0^0 völlig getrocknetes Oxyhämoglobin lässt sich ohne Zersetzung auf 100^0 erhitzen; die geringste Menge Wasser dagegen lässt es schon bei gewöhnlicher Temperatur, viel schneller beim Erhitzen zerfallen. In verdünnter Lösung ist es haltbarer als in concentrirter; je höher die Temperatur, desto schneller die Zerlegung; verdünnte Lösungen können sogar für kurze Zeit auf 70—80^0 ohne bemerkbare Zersetzung erhitzt werden; erhält man dagegen diese Temperatur für einige Minuten, so wird das Oxyhämoglobin vollständig in Methämoglobin, Hämatin und coagulirten Albuminstoff umgewandelt unter bedeutender Farbenänderung und Gerinnung. Durch Alkohol werden Oxyhämoglobinlösungen zunächst gefällt, der zunächst entstehende hellrothe Niederschlag ist in Wasser noch löslich, allmälig (schneller beim Erhitzen) geht die Farbe des Niederschlages in Braun über, und damit ist die Spaltung in coagulirten Albuminstoff und Hämatin geschehen. In sehr wässerigem Spiritus ist Oxyhämoglobin etwas löslich und bei niederer Temperatur auch in dieser Lösung ziemlich beständig. Durch pulveriges kohlensaures Kali wird es aus seiner wässerigen Lösung zunächst ohne Veränderung gefällt, wenn die Temperatur niedrig ist; im Uebrigen sind keine Körper bekannt, welche Fällung des Oxyhämoglobin ohne seine Zersetzung bewirken. Weder durch Bleiessig noch durch salpetersaures Silber wird es gefällt, aber beim Stehen damit in der Lösung bald zerlegt. Alkalien und besonders schnell Säuren bewirken Spaltung ohne vorherige Fällung, ebenso wirkt Ozon. Diese Spaltung geschieht um so schneller, 1) je concentrirter die Säure oder das Alkali ist, 2) je mehr davon zugesetzt ist, 3) je concentrirter die Oxyhämoglobinlösung und 4) je

höher die Temperatur ist. Dabei bildet sich nur dann ein Niederschlag, wenn der entstehende Albuminstoff in der Flüssigkeit unlöslich ist. So tritt diese Zersetzung ohne Niederschlag ein bei Einwirkung von Essigsäure, Weinsäure, Kalilauge u. s. w. Dagegen entsteht Niederschlag, wenn hinreichend Schwefelsäure oder Salpetersäure zugesetzt war. Löst man Oxyhämoglobin unter Zusatz von einer Spur Chlornatrium in starker Essigsäure und erwärmt oder lässt einige Tage stehen, so fällt allein Hämin (vergl. § 161) in meist mikroskopischen Krystallen aus. Durch Aetzammoniak wird Oxyhämoglobin nur sehr langsam in Hämatin und Albuminkörper gespalten, durch kohlensaure Alkalien erst beim Erwärmen angegriffen; bei gewöhnlicher Temperatur erhalten sich Oxyhämoglobinlösungen besser, wenn etwas kohlensaures Alkali hinzugefügt ist, als wenn sie neutral sind. Schon die schwächsten Säuren dagegen zeigen baldige Einwirkung; in einer mit Kohlensäure gesättigten Lösung zerlegt sich Oxyhämoglobin schneller als in neutraler Lösung.

Bei allen diesen Spaltungen des Oxyhämoglobin entstehen neben Hämatin, coagulirbaren Albuminstoffen noch geringe Mengen anderer Körper, besonders Ameisensäure, Buttersäure, vielleicht auch andere fette flüchtige Säuren. Alle diejenigen Salze, besonders schwerer Metalle, welche unter Bildung basischer Verbindungen leicht Säuren abgeben und die löslichen Albuminstoffe coaguliren, zerlegen auch schnell das Oxyhämoglobin, während die neutralen Salze der Alkalien und alkalischen Erden fast sämmtlich ohne Einwirkung sind. Völlig von locker gebundenem Sauerstoff befreite Hämoglobinlösung mit alkoholischen oder wässerigen Lösungen von Säuren oder Alkalien bei Abwesenheit von Sauerstoff gemischt, geben purpurrothe Lösungen oder Niederschläge. Der purpurrothe Farbstoff, Hämochromogen (vergl. Seite 237) verliert in sauren Lösungen leicht den Eisengehalt und geht in Hämatoporphyrin über, in alkalischer Lösung ist er beständiger, wird aber durch Zutritt geringer Spuren von Sauerstoff in Hämatin schnell umgewandelt.

Schwefelwasserstoff wirkt auf Hämoglobin nicht ein, während dies Gas das Oxyhämoglobin zersetzt; bei gleichzeitiger Einwirkung von Sauerstoff und Schwefelwasserstoff bildet sich ein schmutzig grüner nicht krystallisirbarer, wie es scheint, schwefelreicherer Körper, zugleich scheidet sich Schwefel und etwas Albuminstoff aus. Aehnlich wirkt Arsenwasserstoff.

Mit mehren Gasen geht das Hämoglobin ähnliche Verbindungen ein, wie im Oxyhämoglobin mit Sauerstoff*).

Kohlenoxydhämoglobin krystallisirt aus einer warm bereiteten concentrirten Hämoglobinlösung nach Durchleiten von Kohlenoxyd, Abkühlen auf 0°, Zusatz von ¼ Volumen kaltem Alkohol und Stehenlassen bei 0° in schönen oft ziemlich grossen, bläulich rothen Krystallen aus. Die Krystalle sind schwieriger löslich in Wasser und haltbarer als die Oxyhämoglobinkrystalle.

Stickoxydhämoglobin wurde von L. Hermann durch Behandlung von Oxyhämoglobin oder Kohlenoxydhämoglobin mit Stickoxyd erhalten. Die Affinität des Hämoglobin zum Stickoxyd ist grösser als die zum Kohlenoxyd.

Acetylenhämoglobin erhielten Bistrow und Liebreich durch Einwirkung von Acetylen auf Hämoglobinlösungen; diese Verbindung ist wenig beständig.

Oxyhämoglobin kann sich endlich mit Blausäure zu einer leicht zersetzlichen Verbindung vereinigen. Alle diese Verbindungen des Hämoglobin sind isomorph, und Sauerstoff, Kohlenoxyd, Stickoxyd u. s. w. vertreten sich in ihnen nicht nach Aequivalenten, sondern nach Moleculen.

Eine unlösliche Modification von Hämoglobin endlich findet sich zuweilen in alten Strumacysten, in welche Blut sich ergossen hatte. Dieselbe tritt in Form eines ziegelrothen Niederschlags, der aus blutkörperchenähnlichen, runden stark lichtbrechenden Körperchen besteht, auf, ist in Wasser oder Alkohol unlöslich und unveränderlich, wird aber durch Säuren oder Alkalien wie das Hämoglobin zerlegt. Dieser Körper enthält eben so viel Eisen als das Hämoglobin und giebt beim Veraschen ausser dem Eisenoxyd noch etwas kohlensauren Kalk.

Methämoglobin ist ein häufig auftretendes Zwischenproduct der spontanen Umwandlung des Hämoglobin in Hämatin und Albuminstoffe oder der Oxydation des Blutfarbstoffs genannt, welches vor kurzem auch krystallisirt erhalten ist**). Lässt man eine Oxyhämoglobinlösung bei gewöhnlicher Temperatur stehen, so zeigt sie bald im Spectrum einen Absorptionsstreifen im Roth zwischen C und D näher bei C, giebt dann auch mit Bleiessig einen braunen Niederschlag und hat sehr schwach saure Reaction angenommen. Auch in Cysten der Ovarien, Struma, Hydrocele u. s. w., in welche früher Blutextravasate erfolgt sind, findet sich häufig ein brauner in Wasser löslicher Körper, der gegen schwache Säuren, Alkalien, Schwefelammonium grössere Beständigkeit in den optischen Eigenschaften zeigt als das Hämatin und ohne Zweifel mit Methämoglobin meist identisch ist. Der stärkste Absorptionsstreif, welchen das Methämoglobin hervorruft, hat ungefähr die nämliche Lage als der in Fig. 10 im nächsten Paragraphen in No. 6 abgebildete erste Absorptionsstreif des Hämatin in schwefelsäurehaltigem Alkohol.

---

*) Ausführliches ist über diese Verbindungen sowie überhaupt über den Blutfarbstoff gehandelt in Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuchungen. Tübingen. Heft 2, 3 und 4. 1867—1870.

**) Hüfner u. Otto, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7. S. 65.

Durch Fäulniss oder reducirende Substanzen in alkalischer Lösung, z. B. Schwefelammonium wird Methämoglobin in Hämoglobin umgewandelt*).

Nachweis des Oxyhämoglobin, Hämoglobin, des Methämoglobin und Hämatin.

191. Die Nichtfällbarkeit des Oxyhämoglobin und des Hämoglobin durch Bleiessig, auch die Nichtfällbarkeit durch dieses Reagens und Ammoniak machen es nicht schwierig, die Blutfarbstoffe von anderen Farbstoffen zu trennen, doch darf man den Bleiessig nur so lange zur Flüssigkeit, in der man eine derartige Trennung ausführen will, hinzufügen, als noch weiterer Niederschlag bewirkt wird, da einerseits durch einen Ueberschuss des Bleisalzes Methämoglobin und andere gefällte Stoffe wieder gelöst werden und ausserdem das Oxyhämoglobin selbst durch die Gegenwart des Bleiessigs in seiner spontanen Zerlegung beschleunigt wird. Alle Reactionen, in denen es sich um diesen Nachweis handelt, müssen bei niedriger Temperatur, am Besten bei 0°, und möglichst schnell vorgenommen werden. Sind mit Bleiessig und Ammoniak die übrigen Farbstoffe entfernt, so ergiebt die Untersuchung mit dem Spectralapparate die An- oder Abwesenheit des Oxyhämoglobin (vergl. § 17). Die im unten beigefügten Holzschnitt als No. 1 dargestellten zwei Absorptionsstreifen bieten das sicherste Mittel zur Erkennung dieses leicht zersetzlichen Körpers. Zur Bestätigung dient dann noch die Dunkelfärbung der Flüssigkeit bei längerem Einleiten von Kohlensäure, Wiederhellfärbung beim Schütteln mit atmosphärischer Luft, Grünfärbung der Flüssigkeit durch Schwefelwasserstoff und Sauerstoff, der Eisengehalt des durch Kochen abgeschiedenen Coagulum, die Bildung der Häminkrystalle, wenn man eine Portion im luftleeren Raume über Schwefelsäure verdunstet und den Rückstand auf einem Uhrglase mit einem Körnchen Kochsalz und einigen Tropfen Eisessig zum Kochen erhitzt und die Essigsäure dann auf dem Wasserbade verdunsten lässt. Man untersucht dann den Rückstand, der nicht mehr nach Essigsäure riechen darf, mit dem Mikroskope bei etwa 300facher Vergrösserung.

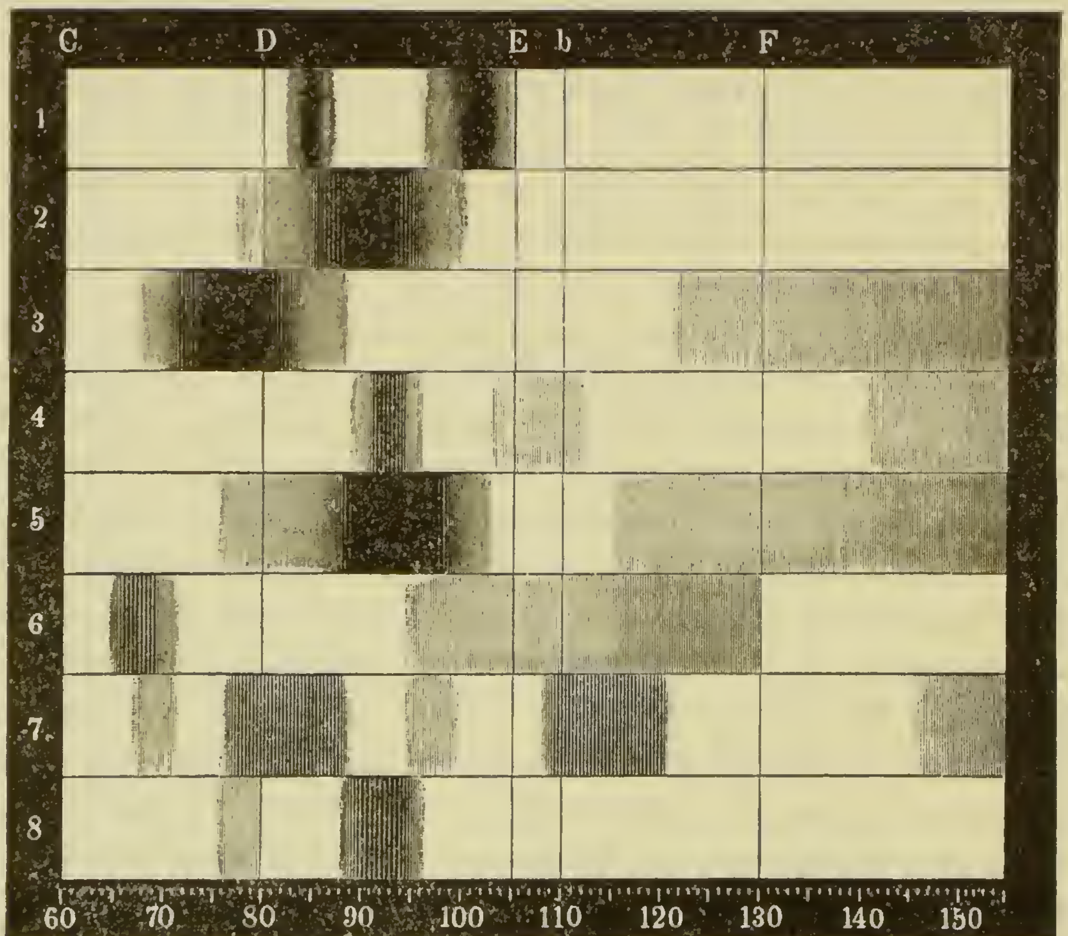
Methämoglobin lässt sich öfters mit dem Spectralapparate ohne Weiteres in den Flüssigkeiten nach dem § 17 beschriebenen Verfahren nachweisen und durch Schwefelammonium in Hämoglobinn überführen. Ist der Streif zwischen C und D (vergl. vorigen Paragraph) nicht hin-

---

*) Vergl. im Uebrigen Hoppe-Seyler, Physiol. Chemie. S. 391.

reichend deutlich, so fällt man die Flüssigkeit mit Bleiessig, so lange ein Niederschlag entsteht, filtrirt den Niederschlag ab, zertheilt denselben in wenig Wasser, zerlegt durch allmälig zugesetzte Portionen kohlensaures Natron bis zur völligen Lösung des Farbstoffs, filtrirt das kohlensaure Blei ab, und untersucht die Lösung mit dem Spectralapparate; Methämoglobin wird hierbei leicht in Hämatin und Albuminstoff gespalten. Ausser diesem Spectralverhalten dient dann der Eisengehalt des beim Kochen der schwach angesäuerten Lösung sich abscheidenden Coagulum und die Bildung von Häminkrystallen aus der mit der Luftpumpe über Schwefelsäure abgedampften Lösung nach der oben beschriebenen Methode zur Bestätigung.

Fig. 10.



Der beigefügte Holzschnitt, Fig. 10, giebt wohl besser als es eine Beschreibung vermöchte, eine Vorstellung von den Spectralerscheinungen, welche das Hämoglobin und Hämatin unter verschiedenen Verhältnissen veranlassen. In Fig. 10 giebt No. 1 das Spectrum des Oxyhämoglobin, 2 das des Hämoglobin, 3 das von Hämatin in sehr verdünnter Natronlauge gelöst, 4 Hämochromogen in alkalischer Lösung. 5 Spectrum der Lösung von 3 mit Cyankalium ver-

setzt, 6 Spectrum des Hämatin, gelöst in schwefelsäurehaltigem Alkohol. 7 und 8 geben die interessanten Spectra des eisenfreien Hämatoporphyrin, ersteres in verdünnter Sodalösung und letzteres in schwefelsäurehaltigem Alkohol. Durch reducirende Stoffe werden diese letzteren Spectralerscheinungen nur schwierig verändert.

Oxyhämocyanin und Hämocyanin. Aus dem Blute der Arterie von Octopus erhielt Fredericq*) als einzigen albuminartigen Körper, der wie das Oxyhämoglobin durch Evacuiren zerlegt werden kann in freiwerdenden Sauerstoff und eine farblose Substanz, Hämocyanin genannt. Das Oxyhämocyanin sieht in Lösung blau aus, bildet getrocknet eine amorphe, glänzende, blauschwarze Masse, gerinnt in Lösung bei 68—69° und wird aus dem Cephalopodenblut durch Dialyse abgetrennt. Durch Salpetersäure oder Salzsäure wird der Farbstoff gespalten in freien Eiweissstoff und eine reichlich Kupfer enthaltende farbige Substanz.

Aehnliche oder identische Farbstoffe gewann Fredericq aus dem Blute von Crustaceen (z. B. von Hummer und Krabben), auch von einigen Gastropoden (z B. Arion helix).

Chondrogen und Chondrin). C 47,74, H 6,76, N 13,87, O 31,04, S 0,60 pCt.**

192. Die Knorpel bestehen, soweit sie reine Knorpel sind, im Wesentlichen aus einer beim Kochen mit Wasser sich als Chondrin lösenden Substanz, die man daher Chondrogen genannt hat; in dieser Substanz liegen die Knorpelzellen eingebettet mehr oder weniger von einander entfernt. Auch die später ossificirenden Knorpel der Embryonen und jungen Wirbelthiere bestehen bis an die Ossificationsfläche aus Chondrin gebendem Gewebe. Elastische und sehnige Faserknorpel enthalten Chondrogen zwischen den elastischen oder Sehnenfasersträngen.

Das Chondrogen erscheint als ungeformte, höchstens feinpunktirte, elastische, brüchige und durchscheinende dem Opal ähnliche Masse, quillt vorher getrocknet nur wenig in Wasser auf, aber nur etwa halb so stark in Essigsäure. Durch Kochen mit Wasser wird es nur langsam zu einer stark opalescirenden Flüssigkeit gelöst, welche beim Erkalten gelatinirt. Diese Flüssigkeit enthält das Chondrin, welches aus der warmen Lösung durch Essigsäure bei Abwesenheit von Salzen der Alkalien oder alkalischen Erden gefällt wird. Dieser Niederschlag ist unlöslich in überschüssiger Essigsäure, wird aber beim Zusatze irgend eines Alkalisalzes leicht in Lösung übergeführt. Auch durch sehr verdünnte Mineralsäuren wird das Chondrin gefällt, aber durch

*) Bull. de l'acad. roy. de Belgique. Ser. 2. T. 47. No. 4.

**) J. v. Mering, Ein Beitrag zur Chemie des Knorpels. Diss. inaug. Köln 1873.

sehr geringen Ueberschuss der Säure wieder gelöst. Ebenso wird der Niederschlag, welchen Alaun in Chondrinlösung erzeugt, durch geringen Ueberschuss des Fällungsmittels wieder aufgelöst. Ausserdem wird Chondrin durch essigsaures Bleioxyd, durch salpetersaures Silberoxyd oder durch Chlorwasser gefällt, diese Niederschläge sind noch nicht hinreichend untersucht; nur unvollständige Fällung bewirkt Quecksilberchlorid. Eine Chondrinlösung frisch bereitet gelatinirt noch bei grosser Verdünnung beim Erkalten, die Gelatine ist in kaltem Wasser unlöslich, leicht löslich in Alkalien, auch in Aetzammoniak. In Alkohol oder Aether ist das Chondrin nicht löslich. Durch anhaltendes Kochen mit Wasser wird es in eine im kalten Wasser lösliche Modification übergeführt, die sich gegen Essigsäure und andere Säuren wie das gelatinirende Chondrin verhält. Sowohl die einfache wässerige als auch die alkalische Lösung des Chondrin zeigen Circumpolarisation, und zwar ist die spec. Drehung für gelbes Licht für die mit ein paar Tropfen Natronlauge versetzte Lösung = —213,5°, für die mit grossem Ueberschusse von Aetznatron versetzte Lösung = —552,0° gefunden; die letztere spec. Drehung vermindert sich, wenn man der Lösung Wasser hinzufügt*).

Erhitzt man Knorpel oder Chondrin mit concentrirter Salzsäure, so zersetzt sich das Chondrin unter Bildung stickstoffhaltiger Körper, welche Kupferoxyd in alkalischer Lösung beim Kochen reduciren, dabei entsteht ein Körper von dem Verhalten des Syntonin. Die nämliche Zerlegung geschieht beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure, ebenso beim Digeriren von Knorpel oder Chondrinlösung mit Magensaft bei Blutwärme oder beim Faulen des Knorpels.

Durch Kochen mit Alkalien oder verdünnter Schwefelsäure, ebenso durch Fäulniss zerlegt sich Chondrin unter Bildung von Leucin, weder Tyrosin noch Glycocoll sind bis jetzt daraus gewonnen, eben so wenig Asparagin- und Glutaminsäure.

Das Chondrin unterscheidet sich durch sein Verhalten zu kochendem Wasser, zu Essigsäure und Alkalisalzen sehr wesentlich von den Eiweissstoffen, von Schleim und Glutin. Während Eiweissstoffe durch Essigsäure gelöst, durch zugesetzte Alkalisalze aber beim Erwärmen gefällt werden, Mucin durch eine Spur Mineralsäure gefällt, durch etwas mehr Säure oder Zusatz von Salz schwer wieder gelöst wird, zeigt das Chondrin Fällung durch eine Spur Mineralsäure und sofort

*) De Bary, Physiol. chem. Untersuchungen über Eiweisskörper u. Leimstoffe. Inaug. Diss. Tübingen. 1864. S. 28.

Wiederlösung durch etwas weiteren Zusatz der Säure oder ein wenig Salz. Glutin wird durch Essigsäure nicht gefällt, ist daher leicht von Chondrin zu unterscheiden. Da sowohl Chondrin als Glutin eine nach dem Erkalten nicht gelatinirende Modification bilden, so ist durchaus nicht auf Abwesenheit beider zu schliessen, wenn man selbst bei hinlänglicher Concentration der zu untersuchenden Flüssigkeit kein Gelatiniren wahrnimmt. Der Nachweis des Chondrogens beruht auf der Darstellung des Chondrins aus demselben durch Kochen mit Wasser. Vollständig getrocknetes Chondrin löst sich sehr schwer wieder in Wasser auf.

Wird Chondrin mit 1 procentiger Schwefelsäure 4—6 Stunden lang auf dem Wasserbade erwärmt, dann die Albuminstoffe durch Phosphorwolframsäure entfernt, das Filtrat mit Barytwasser im Ueberschuss versetzt, Kohlensäure eingeleitet, nach Filtration die Flüssigkeit bei 40° auf kleines Volumen abgedampft, filtrirt und mit Alkohol gefällt, der Niederschlag (Barytsalz) in Wasser gelöst, mit Bleiessig vorsichtig gefällt, der Niederschlag mit SH_2 zersetzt, filtrirt, die Flüssigkeit bei 40° auf kleines Volumen eingedampft und mit absolutem Alkohol gefällt, so erhält man nach noch nicht beendeten Untersuchungen von v. Mering (Privatmittheilung) ein im getrockneten Zustande weisses lockeres Pulver, welches aus einer leicht zersetzlichen stickstoffhaltigen Kohlenhydratsäure besteht. Sie reducirt alkalische Kupferoxydlösung, dreht die Polarisationsebene nach rechts, wird durch Bleiessig besonders bei Gegenwart von Ammoniak gefällt, giebt mit Natronlauge und einem Tropfen Kupfersulfat keine Biuretreaction, färbt sich beim Erhitzen mit Millon'schen Reagens nicht roth und giebt mit Natronlauge erhitzt Brenzcatechin. Die Ausbeute an Kohlehydratsäure ist eine sehr geringe.

Metalbumin und Paralbumin.

193. Von Scherer waren Metalbumin und Paralbumin als Körper beschrieben, die den Eiweissstoffen nahe stehend doch durch einige Reactionen von ihnen verschieden und auch unter sich nicht übereinstimmend seien. Ihr Vorkommen ist beschränkt auf Ovarialcystenflüssigkeiten. In neuester Zeit hat Hammarsten*) erkannt, dass beide Körper nicht von einander verschieden sind, dass die Reactionen des Paralbumins erhalten werden, wenn sich neben Metalbumin

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 194., hier auch die betreffende frühere Literatur.

noch Eiweissstoffe in der Lösung finden. Metalbuminhaltige Flüssigkeiten sind weisslich trübe, zähe fadenziehend, meist nicht filtrirbar, von alkalischer Reaction, nach Verdünnen mit Wasser langsam filtrirend. Durch Alkohol entsteht in ihnen langsam faserige Fällung; der Niederschlag jahrelang unter Alkohol aufbewahrt löst sich in Wasser zur weisslich opalisirenden Flüssigkeit wieder auf. Beim Sieden der Lösungen entsteht nur stärkere Trübung, kein Niederschlag; auch durch Essigsäure keine Fällung. Durch Gerbsäure wird die Lösung dickflüssig, schleimig gallertig, weisslich. Durch Essigsäure oder Salzsäure und Ferrocyankalium wird die Flüssigkeit dickflüssig, ohne dass Niederschlag entsteht, später tritt gelbe Färbung ein. Millon's Reagens giebt beim Kochen braunrothe Färbung. Auch Quecksilberchlorid macht die Flüssigkeit nur dickflüssiger, giebt keinen Niederschlag und Bleiessig fällt die Substanz, löst sie aber im Ueberschuss zugesetzt, leicht wieder. Concentrirte Schwefelsäure und Eisessig geben schön violette Färbung (Reaction von Adamkiewicz). Magnesiumsulfat oder Chlornatrium bis zur Sättigung eingetragen, geben selbst auf Salzsäurezusatz keinen Niederschlag, nur vermehren sie die Opalescenz und Dickflüssigkeit.

Die Zusammensetzung des Metalbumins ist von Hammarsten gefunden zu C 49,44—50,05, H 7,11—6,84, N 10,30—10,27, S 1,25, O 31,54, Asche 1,40 pCt.

Beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure entsteht aus Met- oder Paralbumin ein in alkalischer Lösung Kupferoxyd leicht reducirender Körper. Die alkalische Lösung desselben erhitzt, giebt Milchsäure, Brenzcatechin und Ameisensäure wie Traubenzucker.

Anmerkung. Es finden sich zerstreut verschiedene Angaben über Zusammensetzung von Colloidsubstanzen aus Ovarialcysten, Gallertkrebsen u. dergl., z. B. von Wurtz, Gautier, Cazeneuve und Daremberg, welche weder unter einander noch mit den Eiweissstoffen noch mit dem Metalbumin übereinstimmen. Die kleinern Cysten in multilocularen Ovarialtumoren enthalten Stoffe von ziemlich verschiedener Beschaffenheit; erst weitere Untersuchungen, besonders auch der Stoffe der Gl. thyreoidea, können hier Aufklärung bringen*).

Nucleine.

194. Die Nucleine, Körper, welche unlöslich in Alkohol oder Aether, wenig oder unlöslich in Wasser, ziemlich leicht löslich in Alkalilaugen, schwer löslich oder unlöslich in verdünnten Mineralsäuren, Phosphorsäure in der Weise gebunden enthalten, dass sie durch ver-

*) Vergl. auch hierüber Hammarsten, a. a. O.

dünnte Mineralsäuren in der Kälte nicht abgespalten wird, haben sich als so verbreitet in thierischen und pflanzlichen Organen, Samen und entwickelungsfähigen Zellen und besonders der Kerne in denselben erwiesen, dass nur wenige andere Stoffe eine gleiche Verbreitung haben erkennen lassen. Zuerst in den Kernen der Eiterzellen, dann in Milch, Eidotter, kernhaltigen Blutkörperchen, Sperma und Hefezellen gefunden, haben sie bei näherer Untersuchung sich als eine Gruppe von Stoffen zu erkennen gegeben, die sich vorläufig in 3 Abtheilungen trennen lässt. Die eine Gruppe ist charakterisirt durch Zersetzung beim Kochen mit Wasser oder verdünnten Säuren unter Bildung von Eiweissstoff, Hypoxanthin, Phosphorsäure, die zweite durch Bildung von Eiweissstoff und Phosphorsäure, die dritte durch Hypoxanthin und Phosphorsäure ohne Eiweissstoff. Der ersten Abtheilung gehören zu die Nucleine der Hefe, des Eiters und der kernhaltigen rothen Blutkörperchen, der zweiten die Nucleine des Eidotters und der Milch, der dritten die Nucleine des Lachssperma, welches zuerst eingehende Untersuchung gefunden hat. Der Gehalt an Phosphor in den einzelnen Nucleinen ist ein verschiedener und wegen der grossen Zersetzlichkeit noch in keinem genügend festgestellt. Aus Lachssperma erhaltenes Nuclein gab in Miescher's Untersuchungen 9,6 pCt., aus Gänseblutkörperchen dargestelltes Nuclein 6,04—7,1 pCt., aus Eiterkörperchen erhaltenes 3,2 — 3,7 pCt, aus Hefe erhaltenes 3,2 — 4 pCt., einmal aber 6,2 pCt. Phosphor. Im Nuclein des Lachssperma fand Miescher keinen Schwefel, im Nuclein der Hefe Kossel 0,9 pCt. S, in dem der rothen Blutkörperchen der Gans 0,4 pCt. S, und in dem des Eiters 1,9—2,1 pCt. S. Alle schwefelhaltigen Nucleine geben nach Erhitzen mit Natronlauge auf einen Tropfen Kupfersulfatlösung Biuretreaction und mit Millon's Reagens erhitzt rothen Niederschlag. Beim anhaltenden Kochen mit Barytwasser oder mit verdünnter Säure geben die schwefelhaltigen Nucleine Tyrosin. Das Nuclein der Hefe zerlegt sich ausserordentlich leicht bei Einwirkung von Alkali oder Kochen mit Wasser, auch die übrigen Nucleine zeigen Verschiedenheit in ihrer Beständigkeit.

Zur Darstellung der Nucleine ist es zunächst von Wichtigkeit bei der Isolirung der Zellen und Organe starke NaCl-Lösungen zu vermeiden, weil dies Salz die Nucleine in schleimige Gallerten verwandelt, was durch Sulfate nicht geschieht. Zur Entfernung von Eiweissstoffen behandelt man entweder zuerst mit Wasser, welches 1 p. M. HCl enthält oder löst zunächst in verdünnter Sodalösung oder schwacher Natronlauge, lässt vom Filter beim Filtriren in verdünnte Salzsäure eintropfen um längere Einwirkung des Alkali zu vermeiden.

Zur vollständigen Entfernung von Eiweissstoffen kann dann Pepsinlösung einige Stunden bei Bluttemperatur angewendet werden. Die ungelöst gebliebenen Nucleine werden dann abfiltrirt zunächst mit 0,1 procentigem HCl, dann kurz mit Wasser gewaschen, zuletzt mit Alkohol und Aether ausgekocht und über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet.

Reactionen. Alle Nucleine geben beim Verbrennen auf Platinblech eine schwer verbrennliche, an Wasser Metaphosphorsäure abgebende Kohle. Alle werden schnell beim Kochen mit Alkali zersetzt unter Freiwerden der Phosphorsäure (nicht Glycerinphosphorsäure) Bildung von Pepton, wenn das Nuclein überhaupt der ersten oder zweiten obigen Abtheilung zugehört, und Freiwerden von Hypoxanthin, wenn es der ersten oder dritten Abtheilung zugehört. Beim Kochen mit Wasser zeigt sich bald saure Reaction von freigewordener Phosphorsäure, die nun die weitere Zersetzung immer lebhafter befördert.

Alle Nucleine färben sich gelb mit Jodlösung, die gelbe Farbe wird durch Waschen mit Wasser sehr langsam entfernt. Alle imbibiren sich mit ammoniakalischer Carminlösung. Pepsinverdauung greift Nuclein sehr schwer an. Der Nachweis der Nucleine gründet sich stets auf das Vorhandensein von Phosphorsäureverbindung, die unlöslich in Alkohol oder Aether und unlöslich in verdünnter Salzsäure ist; Lecithin löst sich in ersteren, Phosphate und Glycerinphosphorsäure lösen sich in der Salzsäure, am schwierigsten Eisenphosphat. Durch Schmelzen der in den genannten Lösungsmitteln unlöslichen Bestandtheile von Organen mit Salpeter und Soda in Platinschale erhält man quantitativ die dem Nuclein zugehörige Phosphorsäure durch Lösen der Schmelze, Ansäuern mit Salpetersäure, Uebersättigen mit Ammoniak und Zusatz von Magnesiamischung fällbar.

Nach dem Glühen des Niederschlages kann aus dem Pyrophosphat des Magnesiums nur dann einigermassen auf die Menge des Nucleins geschlossen werden, wenn entsprechend den oben angegebenen Verhältnissen der Procentgehalt des in dem untersuchten Organe enthaltenen Nucleins bekannt ist. Hinsichtlich des Verhältnisses von Nuclein zu Hypoxanthin und Guanin vergl. §§ 102, 104 u. 105*).

---

*) Miescher, Med. chem. Untersuchungen etc., herausgegeben von Hoppe-Seyler Heft 4. S. 441 u. 502. Derselbe, Verhandl. d. naturforsch. Gesellsch. zu Basel. Bd. 6. 1874. S. 138. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 284. Bd. 4. S. 290. Bd. 5. S. 152. Derselbe, Untersuchungen über die Nucleine. Strassburg 1881. Hoppe-Seyler, Physiol. Chemie. I. S. 84.

Fermente.

Pepsin.

195. Das Pepsin, das Eiweissstoffe verdauende Ferment des Magensaftes, ist ein mucinähnlicher noch nicht völlig isolirter Körper, welcher aus neutralen Lösungen nicht durch Pergamentpapier in Wasser diffundirt. Es löst sich in Glycerin, nicht in Alkohol und wird aus der Glycerin- oder wässeriger Lösung durch Alkohol leicht flockig gefällt.

Aus der mit Wasser gewaschenen Magenschleimhaut kann Pepsin mit Glycerin oder mit Wasser, welches 1—4 p. M. ClH enthält, extrahirt werden. Neutralisirt man letztere Lösung, so fällt es nicht nieder, wohl aber theilweise, wenn die mit sehr verdünnter Phosphorsäure aus der Magenschleimhaut extrahirte Lösung dann mit Kalkwasser neutralisirt wird. Auch wenn andere indifferente Körper in der neutralisirten Lösung gefällt werden, wird ein Theil des Pepsin mechanisch mit niedergerissen. Dies Verhalten hat Bruecke*) zur Trennung des Pepsin von Peptonen und anderen Stoffen mit Vortheil benutzt. Auch wenn eine saure Pepsinlösung mit viel Eiweissstoffen der Verdauung unterworfen wird, nimmt der unverdaut bleibende Rest der Eiweissstoffe das Pepsin in sich auf und dasselbe kann durch Waschen mit Wasser nicht daraus entfernt werden, dagegen löst es sich nach Zusatz sehr verdünnter Säuren.

Zur Darstellung des Pepsin können verschiedene Methoden in Anwendung kommen. Soll nur eine gut verdauende Pepsinlösung dargestellt werden, ohne dass es erfordert wird, das Pepsin selbst weiter zu reinigen, so ist es wohl am Zweckmässigsten, die abpräparirte Magenschleimhaut vom Schwein, Kalb u. s. w. mit Wasser zu waschen, in kleine Stücke zu zerschneiden und mit mehreren Portionen sehr verdünnter Salzsäure (4—8 CC. rauchende Salzsäure auf 1 Liter Wasser) zu extrahiren, indem man unter öfterem Umrühren sie einige Stunden darin kalt macerirt, dann abfiltrirt und eine neue Portion der verdünnten Säure aufgiesst, nach einigen Stunden abermals abfiltrirt und zum dritten Male extrahirt. Von einem Schweinemagen erhält man ein bis mehrere Liter sehr gute Verdauungsflüssigkeit auf diese Weise. Diese Lösung ist jedoch zu Verdauungsversuchen sofort anzuwenden, sie verdirbt nach wenigen Tagen. Um Pepsin-

---

*) Sitzungsber. d. Wien. Akad. Bd. 43. S. 602.

extracte zu conserviren, ist es zweckmässig, nach v. Wittich's*) Vorgange, die gereinigte Magenschleimhaut in Alkohol zu erhärten, dann getrocknet zu raspeln und zu pulvern, dann mehre Tage oder Wochen in Glycerin stehen zu lassen. Das nachher abfiltrirte Glycerinextract verdirbt nicht, aus demselben kann das Pepsin durch Alkohol gefällt und in sehr verdünnter Salzsäure (siehe obige Methode) gelöst zu Verdauungsversuchen verwendet werden.

Wird die concentrirte salzsaure Lösung neutralisirt und der Dialyse mit häufig erneuten Quantitäten destillirtem Wasser unterworfen, so gehen Peptone sehr langsam, andere gelöste Stoffe schneller durch das Pergamentpapier in Wasser über, während das Pepsin zurückbleibt.

Ziemlich reine Pepsinlösung gewinnt man durch Extraction der Magenschleimhaut mit sehr verdünnter Phosphorsäure, Filtriren, Neutralisiren mit Kalkwasser, Auswaschen des Niederschlags mit Wasser, Lösung in sehr verdünnter Salzsäure, Fällung mit Alkohol, Filtriren, Wiederlösen des Niederschlags in sehr verdünnter Salzsäure und Reinigung durch Dialyse mit viel Wasser**). Peptone werden von Alkohol viel schwieriger gefällt, als Pepsin.

Pepsin wird weder durch Essigsäure noch durch Essigsäure und Ferrocyankalium gefällt, wohl aber durch essigsaures Blei. Die einzige Reaction, durch welche es sich auszeichnet, ist seine Einwirkung auf Eiweissstoffe in der mit etwas Salzsäure oder Salpetersäure oder Milchsäure versetzten Lösung. Diese Einwirkung ist besonders kräftig bei 40° und etwas höher, bei gewöhnlicher Temperatur sehr langsam, bei höherer Temperatur bis 90° auch noch vorhanden, aber in hohen Temperaturen wird das Pepsin bald zersetzt und unwirksam. In neutraler oder gar alkalischer Lösung verdaut Pepsin Eiweissstoffe nicht.

Fällung durch essigsaures Blei beeinträchtigt die Wirksamkeit des aus dem Niederschlage wieder gewonnenen Pepsin, selbst Stehen unter starkem Alkohol verringert sie.

Um im Harne Pepsin nachzuweisen, verfuhr Bruecke***) in der Weise, dass er zu ein paar Liter desselben verdünnte Phosphorsäure setzte, dann mit Kalkmilch neutralisirte, filtrirte, den Niederschlag mit sehr verdünnter Salzsäure löste, in die Lösung eine Flocke gut ausgewaschenen Blutfibrins einbrachte, verdünnte, bis das Fibrin gut

---

*) Arch. f. d. ges. Physiol. II. S. 193. u. V. S. 435

**) Maly, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 9. S. 592.

***) Bruecke, a. a. O.

quoll, und nun ein paar Tage bei 38° digerirte. Zum Nachweis von Pepsin in den Muskeln stellte er aus dem kalten Wasserextracte der zerhackten Muskeln in derselben Weise eine Pepsinlösung dar, wie er sie zur Darstellung derselben aus Magenschleimhaut beschrieben hat.

Trypsin.

196. Das Eiweissstoffe verdauende Ferment des Pankreas, von Kühne Trypsin genannt, wird möglichst gereinigt gewonnen nach Kühne durch folgendes Verfahren*): Lebensfrisches Pankreas wird noch warm mit Glaspulver und absolutem Alkohol zerrieben, der Niederschlag wird mehrmals in Wasser von 0° gelöst und mit Alkohol gefällt, endlich mit ganz entwässertem Alkohol lange behandelt. Der Niederschlag enthält ausser Trypsin einen eigenthümlichen Eiweissstoff, Leukoïd von Kühne genannt, welcher aus der wässrigen Lösung nicht durch mässiges Ansäuern ausgefällt wird, wohl aber durch 1 pCt. und mehr Essigsäure. Die vom Leukoid getrennte Lösung liefert bei der Fällung mit Alkohol ein bereits viel reineres Trypsin. Wird sie bei einem Gehalte von 1 pCt. Essigsäure einige Zeit auf 40° erwärmt, so entsteht ein neuer feinflockiger Niederschlag von einem Eiweissstoff. Durch Erwärmen unter Zusatz von Soda bis zur recht deutlich alkalischen Reaction entsteht abermals ein Niederschlag grösstentheils von Erdsalzen. Durch Eindunsten bei 40° wird das Tyrosin grösstentheils zur Krystallisation gebracht, in der Lösung bleibt Pepton, viel Leucin und Trypsin. Man befreit das letztere durch Dialyse von den übrigen Stoffen und reinigt es durch wiederholte Fällung mit Alkohol.

Trypsin ist nach Kühne in Wasser leicht löslich, coagulirt beim Aufkochen aus der sauren Lösung vollkommen und zerfällt dabei in coagulirtes Eiweiss und Pepton. In reinem Glycerin ist Trypsin nicht löslich, durch Alkohol wird es aus wässriger Lösung leichter gefällt als Pepton. So lange über Trypsin filtrirtes Glycerin mit Alkohol noch Trübung giebt, ist freies Pepton vorhanden. Aus der Lösung durch Eindunsten bei 40° gewonnen, stellt das Trypsin einen schwach strohgelb gefärbten, durchsichtigen Körper dar, von eigenthümlicher Elasticität, derart, dass er zu einer leichten wolligen Masse aufbröckelt. Trypsin löst Fibrin sehr leicht und reichlich und verdaut die Eiweissstoffe, indem dabei schliesslich die Hälfte des Gewichtes vom Eiweiss als

---

*) Verhandl. d. naturhist. med. Vereins zu Heidelberg N. F. Bd. 1. Heft 3. S. 195.

ein (Antipepton von Kühne bezeichnetes) durch weitere Trypsinwirkung nicht veränderliches Pepton, die andere Hälfte zu Leucin, Tyrosin etc. verändert erhalten wird. Leimgebende Bindegewebesubstanz wird durch Trypsin so wenig als Amylum und Dextrin verändert. Mit Säuren gequellte leimgebende Substanz sowie Glutin werden von Trypsin zu Leimpepton und nicht weiter umgewandelt*). Oxyhämoglobin wird von Pankreasferment leicht gespalten zu Eiweissstoff und Hämochromogen, das im Entstehungszustand mit dem vorhandenen Sauerstoff zu Hämatin oxydirt wird. Hämoglobin wird dagegen bei bleibender Abwesenheit von Sauerstoff von Trypsin nicht angegriffen, selbst bei jahrelanger Einwirkung.

Diastatisches Ferment.

197. Diastatisches Ferment findet sich hauptsächlich und constant in dem Pankreassecret und dem Pankreas selbst, beim Menschen im gemischten Speichel, Submaxillar- und Parotidenspeichel, in geringen Mengen in der Leber, der Galle, dem Blute, Chylus, Nieren, Harn, Gehirn, Magenschleimhaut, Darmschleimhaut. Ganz allgemein verbreitet finden sich diastatische Fermente auch bei den Pflanzen, höheren und niederen, auch den Infusorien. Isolirt ist keins dieser Fermente, zu ihrer Erkennung dient die Einwirkung ihrer wässerigen Lösung auf Amylum in Körnern oder besser zu Kleister gekocht, ebenso die Einwirkung auf Glycogen; beide Stoffe werden durch diese Fermente in Dextrin und Maltose, diese langsam weiter zu Traubenzucker umgewandelt, ohne dass das Ferment selbst eine Veränderung erfährt.

Die diastatischen Fermente lösen sich sehr leicht in Wasser oder in Glycerin, nicht in Alkohol, gehen bei der Diffusion oder Filtration durch thierische Membranen oder Pergamentpapier ohne grosse Schwierigkeit hindurch, werden durch starkes Ansäuern mit Mineralsäuren, ebenso Aetzalkalien, ferner beim Erhitzen der Lösung über 90° zersetzt, zum Theil schon bei viel niedrigerer Temperatur. Die Einwirkung auf Stärkekleister geht bei Speichel- oder Pankreasdiastase am Besten bei 40° vor sich, bei pflanzlicher Diastase bei viel höherer Temperatur.

Danilewski**) und Cohnheim***) haben aus Pankreasinfus und aus Speichel durch Zusatz von verdünnter Phosphorsäure, nachheriges

*) Die Angaben bis hierher über Trypsin sind lediglich der citirten Publication Kühne entnommen.

**) Arch. f. path. Anat. Bd. 25. S. 279.

***) Ebendas. Bd. 28. S. 241.

Neutralisiren mit Kalkwasser das Ferment theilweise gefällt, die wässerige Lösung giebt auch beim Schütteln mit concentrirter ätherischer Cholesterin- oder Collodiumlösung einen Theil des Ferments an den Niederschlag ab, doch gelingt die Fällung sehr unvollkommen.

Zur Gewinnung von diastatischem Ferment aus Flüssigkeiten oder Organen eignet sich ohne Zweifel besonders die Fällung und Erhärtung derselben in Alkohol, Extraction des Niederschlags mit Glycerin*). Aus der Glycerinlösung, die das Ferment beliebig lange conserviren lässt, wird dasselbe durch Alkohol gefällt. Ueber die Wirkung der diastatischen Fermente vergl. Paschutin, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1871. S. 305.

Ein Ferment, welches die Fette in Säure und Glycerin zerlegt, ist von Cl. Bernard im Pankreas und dem Secrete desselben gefunden; dasselbe ist noch nicht isolirt und eine so leicht zersetzliche Substanz, dass es durch Fällung mit Alkohol oder Behandlung mit Glycerin bereits verändert wird. Um seine Einwirkung zu prüfen, kann man daher nur das frische Infus des Pankreas oder den Bauchspeichel selbst verwenden.

Ein Ferment, welches Rohrzucker in Traubenzucker und Fruchtzucker umwandelt, ist in Pflanzen sehr verbreitet und aus der Bierhefe durch Schütteln mit Wasser und Aether und Filtration in grosser Quantität in wässeriger Lösung zu erhalten. Aus der Lösung durch Alkohol gefällt, kann es trocken ohne wesentliche Zersetzung längere Zeit aufbewahrt werden. Paschutin**) fand ein solches Ferment im Darminhalte und der Darmschleimhaut verschiedener Thiere und überzeugte sich, dass es durch mehrmalige Filtration durch thierische Membranen von dem diastatischen Fermente getrennt werden kann. Es wirkt kräftig zersetzend auf Wasserstoffsuperoxyd, wird beim Kochen seiner wässerigen Lösung selbst zersetzt. Dies Ferment bildet sich wahrscheinlich nicht im Thierkörper, sondern gelangt mit der Nahrung in den Darmkanal.

Hornstoffe.

Elastin.

198. Das Elastin, dargestellt durch Kochen des Nackenbandes vom Rinde mit Alkohol, Aether, Wasser, concentrirter Essigsäure, verdünnter Natronlauge, Waschen mit Wasser, verdünnter Salzsäure, dann wieder mit Wasser, wird als die Substanz betrachtet, welche das im Bindegewebe so verbreitete, in einigen Ligamenten massig auftretende elastische Gewebe bildet.

Das Elastin behält bei der beschriebenen Behandlung im Ganzen

---

*) v. Wittich, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 3. S. 339.

**) a. a. O.

seine natürliche Form bei, besitzt gelbe Farbe, ist feucht dehnbar, nach dem Trocknen aber spröde. Es ist vollkommen unlöslich in kaltem oder kochendem Wasser, ebenso in Ammoniak, Essigsäure, Alkohol. In concentrirter Alkalilauge wird es unter Zersetzung aufgelöst, die Lösung wird durch Säuren nicht gefällt, nur mit Gerbsäure giebt die neutralisirte Lösung einen Niederschlag. Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure zerlegt es sich unter Bildung von Leucin.

Einen dem Elastin ähnlichen Körper von der Zusammensetzung C 54,68, H 7,24, N 16,37, O 21,10 pCt., der in concentrirter Kalilauge nicht löslich war, erhielt Hilger*) aus dem Dotter und der Schale von Schlangeneiern.

Horbaczewski**) fand die Zusammensetzung des nach möglichster Zerkleinerung durch Zerstossen im Mörser sehr sorgfältig gereinigten Elastins des Nackenbandes vom Rind zu im Mittel: C 54,32, H 6,99, N 16,75, Asche 0,51 pCt. Die Substanz ist schwefelfrei. Aeltere Analysen von Tilanus und von Müller haben höheren Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt gegeben, wahrscheinlich wegen nicht genügender Reinigung mit Aether. Durch Magensaft wird Elastin langsamer als Eiweissstoffe verdaut, die Fasern werden weich, quellen, lassen sich leicht zerdrücken und lösen sich dann. Gebildet werden bei der Verdauung mindestens 2 Substanzen, von denen die eine, von Horbaczewski Hemielastin genannt, C 54,22, H 7,02, N 16,84 und Asche 0,48 pCt. ergab, bei neutraler oder schwach saurer Lösung in heissem Wasser fast gar nicht, in kaltem gut löslich. Eine kalt bereitete selbst verdünnte Lösung giebt beim Erhitzen flockigen Niederschlag, der beim Erkalten wieder verschwindet. Das Hemielastin wird durch starke Mineralsäuren gefällt, durch den Ueberschuss der Säure wieder gelöst. Bis auf die Reaction gegen starke Essigsäure und Schwefelsäure (von Adamkiewicz), welche negativ ausfällt, verhält es sich in den gewöhnlichen Reactionen wie ein Albuminstoff. Durch Trocknen bei 100 bis 120° wird es in Wasser unlöslich und ist dann von Elastin nicht zu unterscheiden. Das Hemielastin ist dem Propepton sehr ähnlich, aber durch mangelnden Schwefelgehalt und Schwerlöslichkeit in heissem Wasser zu unterscheiden und zu trennen. Neben dem Hemielastin findet sich bei der verdauten Lösung des Elastin Elastinpepton, C 53,57, H 8,075, N 16,20 pCt., in dem

---

*) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1873. S. 166.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 330.

Verhalten gegen Reagentien und Lösungsmittel von Albuminstoffpepton nicht zu unterscheiden, spec. Drehung $(\alpha)_D = -87,94^0$. Auch durch Kochen mit Wasser 30 Stunden lang wird aus Elastin Elastinpepton gewonnen. Hemielastin entsteht auch beim Kochen des Elastin mit verdünnten Säuren.

Keratin. **C 50,3—52,5, H 6,4—7,0, N 16,2—17,7, O 20,7—25,0, S 0,7—5,0 pCt.**

199. Aus Haaren, Nägeln, Horn, Federn, Epidermis und Epithelien erhält man durch Auskochen mit Aether, Alkohol, Wasser und verdünnten Säuren gereinigt Körper als Rückstände, welche die Form dieser Gewebe bedingen und die man, obwohl ihre Analysen nicht völlige Uebereinstimmung in der Zusammensetzung ergeben haben, unter diesem gemeinsamen Namen Keratin zusammenfasst. Es ist sehr wahrscheinlich, dass diese Gewebstheile auch nach der angegebenen Reinigung noch aus einem Gemenge mehrerer Stoffe bestehen, deren Trennung noch nicht gelungen ist. Diese Körper quellen wenig in Wasser auf, sind aber trocken sehr hygroskopisch. Durch anhaltendes Kochen mit Wasser bei 150° zerlegen sie sich theilweise, indem sich eine milchige Flüssigkeit bildet und Schwefelwasserstoff entweicht. Verdampft man die Lösung zur Trockne, so bleibt ein in Wasser unlöslicher Rückstand. In Essigsäure quellen diese Stoffe mehr auf als in Wasser, ohne dabei ihre Structur wesentlich zu ändern, in concentrirter Essigsäure lösen sie sich meist beim Kochen. Mit verdünnter Schwefelsäure gekocht geben sie Leucin und bis etwa 4 pCt. Tyrosin und etwas Asparaginsäure. Nach der Methode von Hlasiwetz und Habermann mit starker Salzsäure behandelt, liefern Haare sowie Horn SH_2, NH_3, Leucin, Tyrosin, Asparaginsäure und viel Glutaminsäure. Hornspäne entwickeln im feuchten Zustande fortdauernd SH_2, Haare dagegen nicht*). Die Hornschicht der Wallfischhaut enthält über 55 pCt. Kohlenstoff, wahrscheinlich wegen des reichlich darin enthaltenen schwarzen Farbstoffs. In Aetzkalilauge oder schwieriger in Lösungen kohlensaurer Alkalien quellen sie und lösen sich besonders beim Erhitzen schwerer oder leichter; die alkalische Lösung entwickelt mit Säuren Schwefelwasserstoff.

De Luca glaubt durch Behandlung von Schlangenhaut mit Kupferoxyd-Ammoniak und Kochen des gebildeten Niederschlags

*) Horbaczewski, Wien. acad. Sitzungsber. Juni 1879. Bd. 80. II.

mit verdünnter Schwefelsäure einen zuckerartigen Stoff erhalten zu haben.

Neurokeratin wurde von Kühne und Ewald*) erhalten aus markhaltigen, nicht aus marklosen Nervenfasern, auch aus grauer Substanz durch Abtrennung der Häute und Gefässe des Gehirns, Waschen mit Wasser, Zerkleinern, Behandlung mit kaltem Alkohol, abermaliges Zerreiben, Abpressen, nochmaliges Behandeln mit viel Alkohol, dann Erschöpfen mit Aether, Trocknen an der Luft, Zerreiben, Schütteln durch ein Haarsieb, Auskochen mit Alkohol, so lange noch Cerebrin aufgenommen wird, Auskochen mit Wasser, Verdauung mit Pepsin, Auswaschen, 24 Stunden lang dauernde Verdauung mit schwach salicylsäurehaltiger Trypsinlösung, dann noch 6 Stunden bei 40° Verdauung in derselben Mischung bei schwach alkalischer Reaction, Abwaschen. Der Rückstand wird nun noch mit kalter, dann mit heisser Sodalösung, schliesslich mit $^1/_2$ procentiger Natronlauge extrahirt. Der letzte noch bleibende Rest von Alkali wird mit etwas Essigsäure entfernt, schliesslich noch mit Alkohol und Aether gewaschen.

Die so gewonnene, leicht gelbliche, pulverige, harte Masse beträgt 15—20 pCt. vom Gewicht des mit Alkohol und Aether erschöpften Gehirnpulvers. Das Neurokeratin ist schwer löslich in heisser starker Kalilauge, giebt dann bei Neutralisation mehr Niederschlag als Horn unter gleichen Verhältnissen. Auch in ziemlich concentrirter Schwefelsäure wird es nur sehr langsam gelöst; Horn löst sich viel leichter. Durch Kochen mit Schwefelsäure wird relativ weniger Leucin als aus Eiweissstoffen, daneben Tyrosin erhalten. Es hinterlässt das Neurokeratin 1,6 pCt. Asche, enthält Stickstoff und 2,93 pCt. Schwefel.

Fibroin C 48,8, H 6,2, N 19,0, O 26,0 pCt.**) nach Cramer, dargestellt durch Kochen von Seide im Papin'schen Digestor bei 133° 12 bis 18 Stunden lang, Auslaugen des Rückstandes mit Alkohol, dann mit Aether, nach Staedeler***) erhalten nach folgender Methode: Man übergiesst gelbe Rohseide mit kalter 5 procentiger Natronlauge, presst die Seide nach 18 Stunden ab, wäscht gut aus, trägt sie dann in verdünnte Salzsäure (1 Theil rauchende Säure in 20 Theile Wasser) ein und wäscht nach dem Auspressen wieder gut aus. Das so erhaltene Fibroin (etwa 50 pCt. der angewandten Seide) ist farblos, von der Form der Seidenfaden, zerreisslich, löst sich nicht in Ammoniak, leicht aber in Kupferoxyd-Ammoniak. In concentrirten Säuren oder Alkalien gelöst, bildet es beim Neutralisiren Niederschläge, die leicht wieder Fadenform annehmen. Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure giebt es Leucin, eben so viel Glycocoll und 5 pCt. Tyrosin.

Sericin oder Seidenleim wird durch Kochen der rohen Seide mit Wasser (etwa 3 Stunden lang) ausgezogen, durch Bleiessig gefällt, der Niederschlag in Wasser zertheilt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, etwas Alkohol zur Fällung des Schwefelbleis zugesetzt, filtrirt und das Filtrat mit Alkohol gefällt. Das in weissen Flocken niederfallende Sericin quillt in Wasser hoch auf, löst sich in kochendem Wasser und die Lösung gelatinirt beim Erkalten wie eine Leimlösung. Die wässerige Lösung des Seidenleims wird ausser Bleiessig noch gefällt 1) durch

*) Verhandl. d. naturhist. Vereins in Heidelberg. Bd. 1. Heft 5.

**) Journ. f. prakt. Chem. 1865. Bd. 96. S. 76.

***) Ann. Chem. Pharm. Bd. 111. S. 12

Gerbsäure als dickflockiger Niederschlag, 2) durch schwefelsaure Thonerde und die meisten Salze der schweren Metalle; die Niederschläge lösen sich zum Theil im Ueberschusse des Fällungsmittels oder beim Erhitzen der Lösung. Das Sericin enthält C 44,3, H 6,2, N 18,3, O 31,2 pCt, entspricht hiernach der Formel $C_{15}H_{25}N_5O_8$ und kann als ein unter Aufnahme von Wasser entstandenes Oxydationsproduct des Fibroin angesehen werden. Beim Kochen von Seidenleim mit einer Mischung von 1 Volumen Schwefelsäure und 4 Volumen Wasser 9 Stunden lang, zersetzt es sich in Leucin, Tyrosin und Serin neben anderen Producten*).

Spongin**) wird aus dem Badeschwamm erhalten durch dessen successive Behandlung mit Aether, Weingeist, Salzsäure und 5procentiger Natronlauge. Es ist dann noch mit Kieselnadeln verunreinigt. In der Zusammensetzung steht das Spongin dem Fibroin sehr nahe, unterscheidet sich aber dadurch, dass es beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure kein Tyrosin, sondern Glycocoll neben Leucin liefert. In Kupferoxyd-Ammoniak schrumpft es zur zerreiblichen Masse zusammen, in Natronlauge entwickelt es etwas Ammoniak.

Conchiolin bildet zum grössten Theil die organische Grundlage der Muschelschalen, ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Essigsäure, verdünnten Mineralsäuren und Aetzkalilauge. Es enthält 16 bis 17 pCt. N und liefert beim Kochen mit Schwefelsäure nur Leucin, kein Tyrosin, kein Glycocoll und keinen Zucker.

Einzelne noch wenig untersuchte Stoffe.

Inosinsäure $C_{10}H_{14}N_4O_{11}$.

200. Im Hühnerfleische hat Liebig eine Säure gefunden, die er Inosinsäure genannt und auf folgendem Wege dargestellt hat. Das gehackte Fleisch wird mit kaltem Wasser extrahirt und das Extract in der Weise behandelt, wie es bezüglich der Darstellung des Kreatin aus den Muskeln (siehe unten) angegeben ist. Die von den Kreatinkrystallen abgegossene Mutterlauge wird allmälig mit Alkohol gemischt, bis sie sich milchig trübt, worauf sie nach einigen Tagen gelbe körnige, blätterige oder nadelförmige Krystalle von inosinsaurem Kali und Baryt gemengt mit Krystallen von Kreatin absetzt. Man löst diese Krystalle in heissem Wasser und versetzt diese Lösung mit Chlorbarium; beim Erkalten scheidet sich inosinsaurer Baryt aus, der durch Umkrystallisiren gereinigt wird. Aus diesem Salze erhält man die Säure durch Zusatz nicht überschüssiger Schwefelsäure oder durch Zerlegung des Kupfersalzes mit Schwefelwasserstoff.

Die Inosinsäure ist noch nicht krystallisirt erhalten, sie bildet einen Syrup, der in Alkohol fest wird, sich leicht in Wasser löst,

*) Cramer, Journ. f. prakt. Chem. 1865. Bd. 96. S. 76.

**) Staedeler, Ann. Chem. Pharm. Bd. 111. S. 16.

Lackmus stark röthet, angenehm fleischbrüheartig schmeckt und sich bereits beim Kochen der Lösung theilweise zersetzt. Ihre Salze, selbst die der Alkalien sind krystallisirbar. Die Alkalisalze sind löslich in Wasser, das in schönen perlmutterglänzenden Blättchen sich abscheidende Barytsalz ist schwer löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Wasser. Das Kupfer- sowie das Silbersalz bilden amorphe unlösliche oder fast unlösliche Niederschläge. In Alkohol oder Aether sind die inosinsauren Salze nicht löslich.

Samandarin hat Zalesky*) eine Base von der wahrscheinlichen Zusammensetzung $C_{34}H_{60}N_2O_5$ genannt, welche in dem rahmähnlichen Secret der Hautdrüsen von Salamandra maculata enthalten ist und die Giftigkeit dieses Secretes bedingt. Das Samandarin wird dargestellt durch Fällung des heiss bereiteten wässerigen Auszugs des Secretes mit Phosphormolybdänsäure, Lösung des abfiltrirt flockigen Niederschlags in Barytwasser, Einleitung von Kohlensäure zur Ausfällung des Baryt, Filtration und Eindampfung des Filtrats in einer Retorte im Wasserstoffstrome. Es bilden sich nadelförmige Krystalle eines Hydrates, die aber zu einer amorphen Masse beim weiteren Austreiben des Wassers eintrocknen. Diese Base ist sehr zersetzlich, in Alkohol oder Wasser sehr löslich, die Lösungen reagiren alkalisch. Mit Säure bildet sie neutrale Salze, beim Fällen durch Platinchlorid tritt Zersetzung ein und beim Eintrocknen der Platindoppelverbindung entsteht eine blaue Masse, die zur Erkennung der Base benutzt werden kann. Beim Kochen mit Wasser zersetzt sich die Base nicht, wohl aber beim Eintrocknen an der Luft.

Als animalisches Chinoidin hat H. Bence-Jones**) eine Substanz beschrieben, welche in sehr geringen Mengen in allen Geweben von Menschen und Säugethieren von ihm gefunden wurde, besonders auch in der Krystalllinse. Diese Substanz veranlasst die weissliche Fluorescenz, welche die schwefelsauren Auszüge aus allen Organen zeigen, und besitzt in ihrem Verhalten auch sonst die grösste Aehnlichkeit mit dem Chinin. Man erhält dieselbe durch Ausziehen der Organe mit Wasser unter Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure im Wasserbade, Uebersättigen des Extractes mit Alkali und Schütteln mit Aether; sie geht dabei in den Aether über.

Elinsäure ist von Chevreul***) eine farblose, flüssige, in Wasser unlösliche, in Aether oder Alkohol lösliche Säure genannt, welche etwas schwerer als Wasser ist und aus dem Schafwollschweisse dargestellt wurde.

Einen Körper von dem Atomenverhältniss $C_7H_{14}O$, schmelzbar bei 53°, unzersetzt destillirend bei 225°, in Alkohol löslich, unlöslich in Wasser, in starker Kalilauge und starker Säure unveränderlich, in lanzettförmigen Blättchen krystallisirend, sowie 2) einen anderen Körper von der Zusammensetzung C_7H_9NO, der bei 160—165° gelb wurde, bei 170—175° schmolz, beim Erkalten zuerst amorph erstarrte, später aber wieder krystallinisch wurde, über 200° erhitzt braunroth

*) Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuchungen. Tübingen. 1866. Heft 1.
**) London Roy. Soc. Proc. XV. 73. Zeitschrift für Chemie. 1866. S. 348.
***) Compt. rend. T. 62. S. 1015. 1866.

gefärbt und unter Geruch nach Bittermandelöl zersetzt wird, fand Shepard*) in den flüssigen Excrementen von Hühnern, welche bei Fütterung mit Fleisch Pillen von Amylum mit benzoësaurem Natron erhalten hatten.

Chlorrhodinsäure ist eine nach folgender Methode erhaltene Säure von Boedecker**) genannt. Eiter wird zur Trockne verdunstet, der gepulverte Rückstand mit Aether, mit Alkohol und dann mit Wasser ausgezogen, das Wasserextract mit Bleiessig gefällt, der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt und mit absolutem Alkohol ausgekocht. Nach dem Verdunsten des filtrirten Alkoholauszugs bleibt die Chlorrhodinsäure in der Form feiner zu Kugeln gruppirter mikroskopischer Nadeln verunreinigt mit etwas Chlornatrium zurück. Die Säure löst sich leicht in Wasser oder Alkohol, nicht in Aether; sie ist nicht sublimirbar, schmilzt beim Erhitzen und verbrennt mit Horngeruch. In ihren wässerigen Lösungen erzeugen Quecksilberchlorid, Zinnchlorür und salpetersaures Quecksilberoxyd weisse Niederschläge, ebenso Gerbsäure, der letztere Niederschlag ist in Alkohol löslich. Jod giebt in den Chlorrhodinsäurelösungen hellgelbe Fällung, Chlorwasser in verdünnter Lösung rosenrothe, in concentrirter dunkelrothe Färbung.

Excretin ist von Marcet***) ein krystallinischer Körper genannt, dessen Zusammensetzung er zu $C_{78}H_{156}O_2S$ fand und den er nur aus menschlichen Excrementen, nicht aus denen von Hunden u. s. w. erhalten hatte. Der Alkoholauszug der Fäces wurde mit Kalk gefällt, der Niederschlag mit Alkohol und Aether extrahirt und diese Lösung in hinreichender Kälte zur Krystallisation stehen gelassen. Das Excretin schmilzt bei 92—96^0, ist nicht löslich in Wasser, fast unlöslich in kaltem, leicht löslich in heissem Alkohol oder Aether; die Lösungen reagiren neutral. Siedende Aetzkalilauge greift es so wenig als verdünnte Säuren an, nur Salpetersäure zersetzt es leicht. Ein neuerdings von Hinterberger†) dargestelltes Präparat, dessen Eigenschaften und Darstellung beschrieben werden, ist schwefel- und stickstofffrei $C_{20}H_{36}O$; es ist wahrscheinlich unreines Cholesterin (Verf.).

Excretolinsäure††) hat Marcet ein Gemenge von fetten Säuren u. s. w. genannt, welches man aus dem Alkoholextracte der Excremente durch Kalk fällt.

Das Serolin Beudet's†††) ist ein Gemenge von Cholesterin, Lecithin u. s. w. aus dem Blutserum.

Kyesteïn und Gravidin*†) sind Bezeichnungen für Substanzen im Harne Schwangerer, welche ein schillerndes Häutchen auf demselben erzeugen sollen, aber jedes chemischen Charakters entbehren.

Eine stickstofffreie Säure erhielt Marcet**†) aus menschlichem Harn durch Verdampfen des Harns mit Thierkohle, Dialysiren des mit Barytwasser gefällten Filtrats, Verdampfung und Fällung der dialysirten Lösung mit Bleiessig, Zerlegung des gewaschenen Niederschlags mit Schwefelwasserstoff. Die neutralen Salze sind

---

*) Zeitschr. f. rat. Med. XXXI. 1868. S. 216.

**) Zeitschr. f. rat. Med. N. F. Bd. 6.

***) Ann. d. chim. et d. phys. T. 59. S. 91. 1860.

†) Ann. Chem. Pharm. Bd. 166. S. 213.

††) Marcet, a. a. O.

†††) Ann. d. chim. et d. phys. II. Ser. T. 52. S. 337.

*†) Gorup-Besanez, Lehrb. d. physiol. Chem. S. 283.

**†) Jahresber. d. Chemie. 1864. S. 644.

in Wasser löslich und geben mit Bleiessig, salpetersaurem Silber, salpetersaurem Quecksilberoxyd oder -oxydulsalz sowie mit Gerbsäure reichlichen Niederschlag.

Kryptophansäure $C_5H_9NO_5$ ist von Thudichum*) eine Extractivsubstanz des Harns genannt, welche er auf verschiedene Weise aus dem Harne fällte, aber nur amorph gewann. Er schreibt vor, entweder den Harn abzudampfen, mit Kalkmilch zu behandeln, dann wieder mit Essigsäure anzusäuern und zur Krystallisation einzudampfen, das erhaltene Extract mit viel starkem Alkohol zu fällen, dann in Wasser gelöst mit Ueberschuss von gesättigter Bleizuckerlösung zu fällen, die abfiltrirte Flüssigkeit mit starkem Alkohol auszufällen; sowohl durch Bleizuckerzusatz als nachher durch Alkohol wird kryptophansaures Blei gefällt. Statt der Reinigung mit Bleizucker kann auch eine Fällung mit essigsaurem Kupfer dienen. Kryptophansäure wird auch gewonnen, wenn gesättigte Bleizuckerlösung zu frischem Harn (10 CC. auf 1 Liter Harn) hinzugemischt, der Niederschlag entfernt, dann das Filtrat mit Bleizucker und Ammoniak gefällt und der Niederschlag genau mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt wird. Diese Lösung behandelt man mit kohlensaurem Baryt oder Aetzbaryt und fällt den kryptophansauren Baryt mit Alkohol.

Die Kryptophansäure ist gummiartig, löslich in Wasser, weniger in Alkohol, nicht in Aether; sie wird durch salpetersaures Quecksilberoxyd, ebenso durch Eisen- oder Chromoxydsalze gefällt und reducirt in alkalischer Lösung Kupferoxyd beim Erhitzen zu Oxydul. Die Kryptophansäure macht sonach die Liebig'sche Harnstoffbestimmung und ebenso die bekannten Titrirungen der Phosphorsäure und des Traubenzuckers unrichtig. Sie ist eine zweibasische Säure. Die bisherigen Angaben genügen durchaus noch nicht, die Kryptophansäure als eine reine Substanz zu charakterisiren.

Hlasiwetz und Habermann machen auf die Aehnlichkeit der Zusammensetzung der Kryptophansäure und der Glutaminsäure aufmerksam.

IV. ABTHEILUNG.

Die qualitative und quantitative Untersuchung thierischer Flüssigkeiten, Gewebe und Concretionen.

1. Aschen.

Anfertigung der Aschen.

201. Um sich zunächst zu überzeugen, ob eine Substanz überhaupt feuerbeständige Stoffe enthält, erhitzt man eine kleine Portion derselben auf Platinblech und erhält bei mässigem Glühen, bis die

*) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1870. S. 195 u. 209. Sitzungsber. d. bayersch. Akad. d. Wiss. 1870. März.

Kohle verschwunden ist. Man kann durch Prüfung der Löslichkeit in Wasser, der Reaction der wässerigen Lösung gegen Lackmuspapier, Aufbrausen beim Uebergiessen mit Säure sich meist bei sehr kleinen Aschenrückständen zu manchen Zwecken hinreichend orientiren, zu jeder genaueren Untersuchung ist jedoch die Anfertigung grösserer Aschequantitäten erforderlich. Zu diesem Zwecke trocknet man zunächst die Substanzen möglichst, bringt sie dann in eine kleine dünne Platin- oder Porcellanschale oder Tiegel und zwar ist es erforderlich, dass das Gefäss mindestens das sechsfache Volumen der zu veraschenden Substanz fassen kann. Ist die Substanz spröde, knistert und zerspringt sie beim Erhitzen (Albuminstücke u. dergl.), so bedeckt man zunächst das Gefäss und erhitzt, bedeckt so lange, als man das Knistern hört, dann entfernt man den Deckel. Jedenfalls ist das Erhitzen nur langsam zu steigern, um dem Wasser, gasförmigen und öligen Destillationsproducten hinreichend Zeit zum ruhigen Entweichen zu lassen; zu rapides Entweichen der Gase kann Verlust an Substanz durch Fortreissen zur Folge haben und somit erheblichen Verlust an Asche. Tritt zu heftiges Aufschäumen ein, so kann man durch Umrühren und Hinabdrücken mit einem Platinspatel oder starken Platindraht das Ueberschäumen meist verhindern, ist dies jedoch nicht zu fürchten, so ist es zweckmässiger, die verkohlende Masse nicht zu berühren. Man erhitzt in dieser Weise bis zur beginnenden Rothgluth und erhält bei dieser Temperatur, bis keine Dämpfe oder Nebel mehr entweichen, die Kohle fest und unbeweglich geworden ist, und lässt nun erkalten. Die erkaltete Kohle wird mit ein Wenig Wasser übergossen, unter demselben möglichst fein gerieben, nach Zusatz von mehr Wasser zum Sieden erhitzt, durch ein aschefreies Filter (vergl. § 5) filtrirt und nach dem Ablaufen der Flüssigkeit mit heissem Wasser genügend ausgewaschen. Schale oder Tiegel, Filter und Kohle werden jetzt im Luftbade getrocknet, die trocknen Substanzen (mit dem Filter) dann in dem Tiegel oder der Schale allmälig bis zum heftigen Glühen erhitzt und diese Erhitzung im offenen Gefässe so lange erhalten, bis die Kohle völlig oder bis auf geringere Spuren verschwunden ist.

Auf diese Weise erhält man erst ein Wasserextract aus der Kohle und dann die von Wasser nicht gelösten Aschenbestandtheile für sich. Da jedoch die Kohle stets noch Spuren löslicher Salze zurückhält, wird von Wasser aus der Asche fast immer noch ein Wenig aufgenommen und es ist daher zur Trennung der löslichen von den unlöslichen Aschenbestandtheilen diese Extraction der von Kohle durch

Glühen befreiten Asche nie zu vernachlässigen. Die Extraction der Kohle mit Wasser vor ihrer Entfernung durch heftiges Glühen hat einerseits den Zweck, die Verflüchtigung der Alkalisalze zu vermeiden, andererseits die Reduction von schwefelsauren Salzen oder Phosphorsäure zu hindern. Ist eine Kohle reich an Alkalisalzen, so tritt ausserdem der Uebelstand ein, dass dieselben in starker Hitze schmelzen, die Kohle als Flüssigkeit überziehen und den Zutritt des Sauerstoffs zur Kohle völlig verhindern.

Trotz der oben angegebenen Vorsichtsmassregeln treten beim Verkohlen und Veraschen leicht Verluste an Alkalisalzen, besonders Chlorverbindungen und kohlensauren Salzen ein, wenn viel beim Verkohlen sich aufblähende organische Substanzen (wie Albuminstoffe) zugegen sind. Es ist deswegen zur Anfertigung von Aschen aus Blut und anderen eiweissreichen Körpern zweckmässig, die getrockneten und pulverisirten Substanzen mit kochendem Wasser auszulaugen und diese Extracte gesondert von den wieder zu trocknenden in Wasser nicht löslichen Stoffen der Veraschung in obiger Weise zu unterwerfen.

Zur Erleichterung der Veraschung sind verschiedene Mittel empfohlen: Rose*) empfiehlt Beimischung von Platinschwamm zur organischen Substanz, Graeger**) Zusatz von 10—20 pCt. des Gewichtes der zu veraschenden Substanz an Eisenoxyd (aus oxalsaurem Eisenoxydul durch Glühen bereitet). Alex. Mueller***) fügt zur zu veraschenden Substanz gleich vor der Verkohlung soviel salpetersaures Eisenoxyd, dass man etwa 40 pCt. Eisenoxyd in der Asche erhält. Alle diese Zusätze sind unnöthig, wenn man vor dem heftigen Glühen die Kohle mit Wasser gut auslaugt, und der Zusatz des Eisenoxyds hat noch den Nachtheil, dass man noch eine gesonderte Portion der Substanz zur Prüfung oder Bestimmung des Eisengehaltes veraschen muss.

Dagegen ist es in gewissen Fällen durchaus nöthig, der zu veraschenden Substanz kohlensaures Alkali oder Aetzbaryt zuzusetzen, um die Verflüchtigung oder Zersetzung von Säuren zu vermeiden. Zur Erhaltung der ganzen in der Substanz enthaltenen Phosphorsäure empfiehlt A. Strecker†), nach der Verkohlung die Kohle mit con-

---

*) Handbuch d. quantitat. chem. Analyse. 6. Aufl. S. 761

**) Ann. Chem. Pharm. Bd. 111. S. 123.

***) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 80. S. 118.

†) Ann. Chem. Pharm. Bd. 73. S. 366.

centrirtem Barytwasser gut zu befeuchten, zu trocknen und nun zu glühen. Vermuthet man Chlorcalcium und besonders Chlormagnesium in einer zu veraschenden Substanz oder muss man (wie z. B. beim Veraschen des Gehirns geschieht) fürchten, dass wegen Mangel an genügenden Basen sich Phosphorsäure zersetzt, so mengt man sie vor dem Verkohlen mit kohlensaurem Natron und bildet somit im ersten Falle kohlensauren Kalk und kohlensaure Magnesia neben Chlornatrium, in letzterem bewahrt man die Phosphorsäure vor Zersetzung; freilich ist dann eine gesonderte Portion der Substanz ohne Sodazusatz zu veraschen und auf Natron zu prüfen und ausserdem findet leicht geringe Bildung von Cyanmetall statt, wenn die verkohlte Substanz reichlich Stickstoff enthielt und ihr Soda zugesetzt war.

Sind die zu veraschenden Quantitäten der Substanz nicht zu bedeutend, so dient zur Heizung der Bunsen'sche Gasbrenner oder die Spiritusflamme, grössere Quantitäten verascht man zweckmässiger in der Muffel, in welche man die Substanz in Platin- oder Porcellanschalen einschiebt. Die Oeffnung der Muffel nach der Feuerung ist dabei zu verschliessen, vorn dagegen der Luftzutritt zu gestatten.

Quantitative Bestimmung der Asche.

202. Zur quantitativen Bestimmung der Asche, welche eine organische Substanz enthält, verfährt man ganz nach den Vorschriften des vorigen Paragraphen. Nachdem das Gewicht der gut getrockneten Substanz bestimmt ist, wird dieselbe verkohlt, die von Empyreuma freie Kohle über Schwefelsäure erkalten gelassen, gewogen, mit heissem Wasser extrahirt, durch ein kleines aschefreies, getrocknetes und gewogenes Filter filtrirt, gut ausgewaschen, Filter mit Kohle werden zwischen Uhrschalen (vergl. § 7) getrocknet und gewogen, ebenso der Tiegel oder die Schale mit dem Rest der Kohle, die darin zurückgeblieben, getrocknet und gewogen, die Kohle wird dann mit dem Filter verascht, die Asche über Schwefelsäure erkalten gelassen und gewogen.

Der Gewichtsverlust, den die Kohle bei der Extraction mit Wasser erfahren hat, entspricht den im Wasser gelösten Aschenbestandtheilen; der Wasserauszug der Kohle über kleiner Flamme ohne Kochen zuletzt auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet giebt dann den Rückstand, welcher vorsichtig (Verlust durch Decrepitiren der Salze ist durch Bedeckung im Anfange des stärkeren Erhitzens zu verhüten)

zum beginnenden Glühen erhitzt und nach dem Erkalten gewogen das gleiche Gewicht besitzen muss, als jener oben bestimmte Gewichtsverlust der Kohle bei der Extraction mit Wasser.

Die geglühte Asche ist mit Wasser zu extrahiren, auf kleinem aschefreien Filter zu sammeln, zu trocknen, nochmals zu glühen und nach dem Erkalten zu wägen, wenn man von der Asche erfahren will, welches die Gewichtsverhältnisse der in Wasser löslichen und der unlöslichen Aschenbestandtheile sind.

Ist Baryt nach der Verkohlung zugesetzt, so ist in der Asche durch Fällung mit Schwefelsäure sein Gewicht zu bestimmen und zur Bestimmung Chlorcalcium oder Chlormagnesium-haltiger Asche ist vor der Verkohlung eine gewogene Quantität pulverisirtes und schwach geglühtes kohlensaures Natron zuzusetzen.

Qualitative Analyse der Aschen.

1. Untersuchung der in Wasser löslichen Bestandtheile.

203. Der wässerige Auszug der Asche oder sein in Wasser wieder gelöster Rüchstand ist zunächst auf die Reaction gegen Lackmus zu prüfen. In den bei Weitem meisten Fällen wird sie alkalisch gefunden und ist dann durch kohlensaure oder phosphorsaure Alkalien bedingt.

Ist kohlensaures Alkali zugegen, so giebt eine durch Abdampfen etwas concentrirte Probe Aufbrausen auf Zusatz von Salzsäure, rührte dagegen die alkalische Reaction von phosphorsaurem Alkali her, so tritt auch beim Erhitzen mit Salzsäure keine Gasentwickelung vor dem Sieden ein, dagegen erhält man die weiter unten angegebenen Reactionen der Phosphorsäure.

Ausser diesen Verbindungen können die Wasserauszüge der Aschen schwefelsaure und salzsaure Alkalien enthalten, auch schwefelsaurer Kalk kann in seltenen Fällen in thierischen Aschen gefunden werden. Man prüft gesonderte Proben der Flüssigkeit auf folgende Weise:

1) Eine kleine Probe versetzt man mit Chlorbarium und säuert mit Salzsäure an. Ein feinpulveriger in Salzsäure und Wasser unlöslicher Niederschlag zeigt Schwefelsäure an.

2) Eine andere Probe wird mit salpetersaurem Silberoxyd versetzt; ein in Salpetersäure unlöslicher, in Ammoniak dagegen löslicher Niederschlag ist Chlorsilber, weist somit Anwesenheit von Salzsäure nach. Wenn bei der Verkohlung kohlensaures Alkali zugesetzt war oder dieses bereits reichlich in der verkohlten Substanz enthalten ist, kann die Kohle Cyanmetall enthalten. Um in diesem Falle auf Cyan

zu prüfen, versetzt man eine Probe der Lösung mit Natronlauge, dann mit einem Tropfen einer Lösung von Eisenvitriol, schüttelt um, erwärmt und übersättigt nun mit Salzsäure, es entsteht eine blaue oder grüne Färbung oder blauer Niederschlag von Berlinerblau, wenn Cyan vorhanden ist. Um in diesem Falle auf Salzsäure zu prüfen, säuert man die Probe mit Salpetersäure gut an, erhitzt in der Abdampfschale zum Kochen und prüft dann erst mit salpetersaurem Silberoxyd.

3) Eine dritte Probe versetzt man mit Chlorammoniumlösung, dann mit Aetzammoniak, schüttelt um und fügt tropfenweise Lösung von schwefelsaurer Magnesia hinzu. Ein entweder sofort oder allmälig beim Stehen unter öfterem Umschütteln entstehender krystallinischer Niederschlag zeigt Phosphorsäure an. Zur Bestätigung kann man eine Probe mit Molybdänsäurelösung versetzen und erwärmen. Ist Phosphorsäure zugegen, so bildet sich allmälig ein gelber feinkörniger Niederschlag. Diese zweite Reaction gelingt oft noch, wo die erstere keine Spur von Phosphorsäure nachzuweisen vermochte.

4) Eine andere Probe wird mit Aetzammoniak und oxalsaurem Ammoniak auf Kalk untersucht; derselbe kann höchstens in Spuren der wässerigen Lösung sein, wenn diese Phosphorsäure oder Kohlensäure enthält und nicht sauer reagirt.

5) Eine Probe durch Eindampfen concentrirt wird mit Alkohol versetzt, ein Tropfen Salzsäure und einige Tropfen Platinchlorid hinzugefügt und einige Zeit stehen gelassen. Ein gelber krystallinischer Niederschlag weist die Gegenwart von Kali nach.

6) Endlich verdunstet man den Rest der disponiblen Flüssigkeit in einem Schälchen fast zur Trockne und bringt mittelst eines in das Salzgemenge getauchten Platindrahtöhrs eine Probe des Salzgemenges in die Flamme eines Gasbrenners oder einer Spiritusflamme. Strahlend gelbe Färbung der Flamme zeigt die Gegenwart von Natron an.

Proben dieses rückständigen Salzgemenges können auf Spuren von Lithion noch im Spectralapparate (vergl. § 18) und zur Bestätigung auf Kali untersucht werden, auch die Anwesenheit von Spuren von Kalk kann nach Befeuchten des Salzgemenges mit Salzsäure im Spectralapparate oft nachgewiesen werden. Zum genaueren Nachweis des Lithion vergl. § 42; überhaupt sind die betreffenden Paragraphen der dritten Abtheilung bezüglich der bei obigen Reactionen entstehenden Niederschläge und der zur weiteren Bestätigung anzustellenden Proben auf die einzelnen Säuren und Basen nachzusehen.

Hat man wenig Asche und auf alle Bestandtheile zu prüfen, so kann man die durch Salzsäurezusatz auf Kohlensäure untersuchte Probe zu den Reactionen

auf Schwefelsäure oder Phosphorsäure sowie auf Natron benutzen. Um zu untersuchen, ob der Wasserauszug der Kohle Kieselsäure enthält, säuert man eine Portion desselben mit Salzsäure an, verdampft zur Trockne, löst den Rückstand in Salzsäure; Kieselsäure bleibt dann ungelöst zurück.

2. Untersuchung der in Wasser nicht löslichen Aschenbestandtheile.

204. Die in Wasser nicht löslichen Aschenbestandtheile erwärmt man mit verdünnter Salzsäure und wenn hierbei Eisenoxyd zurückbleiben sollte, digerirt man bis zur völligen Lösung mit concentrirter Salzsäure auf dem Wasserbade, dann filtrirt man etwaige Spuren von Kohle ab. Ein Aufbrausen beim Uebergiessen mit Salzsäure zeigt sofort Kohlensäure an, doch ist es nicht unwichtig, sich zu überzeugen, ob nicht Geruch nach Schwefelwasserstoff dabei zu bemerken ist.

Will man auf Kieselsäure (nur bei grosser Aschenquantität thunlich und auch dann nur, wenn in Platingefässen verascht war) prüfen, so verdampft man in einer Platinschale die filtrirte Flüssigkeit auf dem Sandbade zur Trockne, erhitzt bis kein Geruch nach Salzsäure bemerkt wird und löst den Rückstand wieder in Salzsäure unter Erwärmen, Kieselsäure bleibt ungelöst zurück und wird durch Filtration abgeschieden und ihre Löslichkeit in kohlensaurem Natron geprüft (vergl. § 55).

Das klare Filtrat wird mit kohlensäurefreiem Ammoniak stark alkalisch gemacht und verschlossen einige Zeit stehen gelassen, dann schnell filtrirt und Filter sowie Flüssigkeit dabei möglichst bedeckt gehalten. In dem Filtrate*) prüft man mit oxalsaurem Ammoniak auf Kalk und nach völligem Ausfällen des oxalsauren Kalks die abfiltrirte Flüssigkeit mit phosphorsaurem Natron auf Magnesia.

Der durch Ammoniak in der salzsauren Lösung der unlöslichen Aschenbestandtheile erhaltene Niederschlag hat entweder weisse oder rothe Farbe. Wenn er roth erscheint, enthält er mehr Eisenoxyd, als die zugleich darin enthaltene Phosphorsäure zu sättigen vermag, ist er dagegen weiss, so ist kein überschüssiges Eisenoxyd darin vorhanden. Ist der Niederschlag weiss oder gelblichweiss, so verfährt

*) Ist das Filtrat blau gefärbt, so enthält es Kupfer, man säuert dann die Flüssigkeit mit Salzsäure schwach an, fällt das Kupfer durch einen Strom Schwefelwasserstoff, filtrirt, löst das Schwefelkupfer in wenig heisser Salpetersäure und prüft nach § 47. Die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Flüssigkeit wird mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit ihrer Untersuchung wie oben angegeben fortgefahren.

man zu seiner Untersuchung nach 1., ist er roth gefärbt (z. B. aus der Blutasche), so schlägt man den in 2. angegebenen Weg ein.

1) Der durch Ammoniak erhaltene Niederschlag wird mit Essigsäure erwärmt; bleibt ein Theil des Niederschlags in Gestalt gelblich-weisser Flocken ungelöst, so besteht derselbe aus phosphorsaurem Eisenoxyd. Zur Controle kann der Niederschlag abfiltrirt, in etwas verdünnter Salzsäure gelöst und die Lösung mit Ferrocyankalium geprüft werden.

Die vom phosphorsauren Eisenoxyd abfiltrirte Flüssigkeit wird mit oxalsaurem Ammoniak auf Kalk geprüft, der vorhandene Kalk durch dies Reagens völlig ausgefällt, erwärmt, filtrirt, das Filtrat mit Aetzammoniak versetzt und stehen gelassen. Ist Magnesia vorhanden, so bildet sich sogleich oder nach einiger Zeit ein krystallinischer Niederschlag.

Der bei dieser Untersuchung des Ammoniakniederschlags gefundene Kalk und die ihn begleitende Magnesia sind als phosphorsaurer Kalk und phosphorsaure Magnesia der Asche zu betrachten, da andere anorganische Verbindungen dieser alkalischen Erden durch Aetzammoniak bei Gegenwart von Chlorammonium nicht gefällt werden. Die dem Kalk zugehörige Phosphorsäure kann dann durch schwefelsaure Magnesia noch gefällt werden.

2) Ist der durch Aetzammoniak erhaltene Niederschlag röthlich und somit reich an Eisenoxyd, so versetzt man ihn, nachdem er mit etwas Wasser in eine Schale gespült ist, mit Essigsäure, bis sich ein Theil des Eisenoxyd löst, erhitzt dann und erhält einige Minuten im Kochen. Der Niederschlag enthält jetzt, wenn die Flüssigkeit darüber völlig farblos erscheint (bis zur Farblosigkeit muss die Flüssigkeit gekocht werden), alle Phosphorsäure und alles Eisenoxyd. Man filtrirt und untersucht das Filtrat nach Zusatz von Ammoniak bis zur schwachen alkalischen Reaction mit ein paar Tropfen Schwefelammonium auf Mangan. Entsteht ein Niederschlag, so lässt man im bedeckten Gefässe an einem warmen Orte so lange stehen, bis der Niederschlag flockig und gut filtrirbar erscheint, filtrirt dann und prüft im Filtrate mit oxalsaurem Ammoniak auf Kalk und nach Ausfällung des ganzen Kalkes und Filtriren mit phosphorsaurem Natron unter Zusatz von etwas mehr Ammoniak auf Magnesia.

Der durch Schwefelammonium erzeugte Niederschlag von Schwefelmangan wird mit etwas erwärmter Salzsäure gelöst, die Lösung mit etwas Salpeter versetzt, durch kohlensaures Natron die Lösung alkalisch gemacht, zur Trockne verdunstet und der Rückstand auf Platin-

blech zum Schmelzen erhitzt. Grüne Färbung der geschmolzenen Masse bestätigt die Anwesenheit des Mangan.

Eisenoxyd und Phosphorsäure, welche durch Kochen des Ammoniakniederschlags mit Essigsäure als Niederschlag erhalten waren, trennt man von einander durch Auflösen in verdünnter Salzsäure, Zusatz von etwas Weinsäure, sodann Ammoniak und endlich Schwefelammonium zu klarer gelblicher Lösung und Erwärmen der Mischung. Das Schwefeleisen wird vollständig gefällt (die Flüssigkeit darf nicht mehr grün, sondern soll rein gelb sein, sonst lässt man noch einige Zeit in der Wärme, aber bedeckt, stehen), durch ein vorher gut ausgewaschenes Filter schnell filtrirt und mit etwas schwefelammoniumhaltigem Wasser schnell ausgewaschen, dabei ist der Zutritt der Luft zum Schwefeleisen möglichst zu verhindern. Im Filtrate wird die Phosphorsäure nöthigenfalls nach vorherigem Eindampfen auf ein kleines Volumen und Abfiltriren von etwa ausgeschiedenem Schwefel durch Aetzammoniak und schwefelsaurer Magnesia gefällt.

Rücksichtlich der Zusammensetzung und der Eigenschaften der bei diesen Reactionen erhaltenen Niederschläge sind die in der dritten Abtheilung §§ 39—55 gegebenen Darlegungen zu vergleichen.

Vermuthet man in einer Asche Kupfer, so stumpft man die Säure der salzsauren Lösung der in Wasser nicht gelösten Aschenbestandtheile mit Ammoniak ab, ohne völlig zu neutralisiren, leitet einen Strom von Schwefelwasserstoff durch die Flüssigkeit, filtrirt ausgefälltes Schwefelkupfer ab, und untersucht dann die so erhaltene Lösung nach den im Anfange dieses Paragraphen gegebenen Vorschriften weiter; in den meisten Aschen ist jedoch Kupfer durch die gewöhnlichen Reagentien nicht nachweisbar.

Quantitative Bestimmung der einzelnen Aschenbestandtheile.

Allgemeines. Bestimmung von Kalium und Natrium.

205. Die Trennung der einzelnen Körper behufs ihrer quantitativen Bestimmung kann nach denselben Methoden ausgeführt werden, welche zur qualitativen Prüfung im vorigen Paragraphen angegeben sind, nur ist es wichtig, dass hierbei alle Fällungsvorschriften genau befolgt, die Fällungen selbst vollständig ausgeführt werden. Die auf dem Filter gesammelten Niederschläge werden nach dem Trocknen vorsichtig in den Tiegel geschüttet, in dem man sie wägen und glühen will, das Filter verbrennt man dann entweder über der Substanz im Tiegel oder man faltet es zusammen, umwickelt es mit Platindraht,

verbrennt es über einem Teller, von dem man die Asche mit einer Federfahne in den Tiegel fegt.

Zur Gewichtsbestimmung des Kalium und Natrium wird eine nicht zu geringe Portion des Wasserextractes abgemessen oder gewogen, mit Chlorbarium versetzt so lange ein Niederschlag entsteht, dann Barytwasser bis zur stark alkalischen Reaction hinzufügt, filtrirt, ausgewaschen, das Filtrat mit Aetzammoniak und kohlensaurem Ammoniak gefällt, wieder filtrirt und gewaschen, das gesammelte Filtrat zur Trockne verdunstet, zur Entfernung der Ammoniaksalze bis zum schwachen Glühen erhitzt, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, etwa ungelöst bleibende Flocken abfiltrirt, mit Wasser gut ausgewaschen, die Flüssigkeit abermals zur Trockne verdunstet, schwach geglüht und gewogen. Zur Lösung des gewogenen Rückstandes, welcher die Summe des Chlorkalium und Chlornatrium ausmacht, in wenig Wasser und etwas Spiritus fügt man Platinchlorid, bis kein Niederschlag mehr entsteht und die Farbe der Flüssigkeit gesättigt gelb erscheint, lässt 12—24 Stunden bedeckt stehen, sammelt dann den Niederschlag auf einem kleinen gewogenen Filter, wäscht mit verdünntem Spiritus gut aus, trocknet bei 100—110°, lässt über Schwefelsäure erkalten und wägt. Aus dem Gewichte des Kaliumplatinchlorids wird nach Tabelle II im Anhange das Gewicht des Chlorkalium berechnet und durch Subtraction desselben von dem vorher gefundenen Gewichte der Summe der Chloralkalimetalle das Gewicht des Chlornatrium gefunden.

Bestimmung von Calcium und Magnesium.

206. War im Wasserextracte einer Asche Kalk gefunden, so wird in einer gewogenen oder abgemessenen Portion dieses Auszugs der Kalk durch Zusatz von Aetzammoniak und oxalsaurem Ammoniak ausgefällt, auf dem Wasserbade die trübe Flüssigkeit einige Zeit erwärmt, der Niederschlag dann auf einem kleinen Filter gesammelt, mit Wasser gut gewaschen, getrocknet, im Tiegel geglüht, nach dem Erkalten mit einigen Tropfen einer Lösung von kohlensaurem Ammoniak befeuchtet, wieder getrocknet, bis zum beginnenden Glühen erhitzt und nach dem Erkalten gewogen. Aus dem erhaltenen kohlensauren Kalke ermittelt man durch Rechnung den Gehalt des Aschenauszugs an Kalk, vergl. Tabelle II im Anhange.

Zur Controle ist es zweckmässig, den bereits gewogenen kohlensauren Kalk, wenn sich derselbe in einem Platintiegel befindet, durch

heftiges Weissglühen mit Hülfe des Gebläses oder im Hempel'schen Gasofen*) in Aetzkalk zu verwandeln und nach dem Erkalten über Schwefelsäure nochmals zu wägen. Statt dessen kann man auch den geglühten kohlensauren Kalk in etwas Salzsäure lösen, die Lösung zuerst auf dem Wasserbade, dann im Luftbade bei 120—130° trocknen, in etwas Wasser lösen und in derselben nach Hinzufügen von etwas chromsaurem Kali den Chlorgehalt titriren, wie es in § 209 beschrieben ist. Jedes CC. dieser Silberlösung entspricht dann 3,42 Milligr. Calcium.

Der Kalk, welcher sich in dem in Wasser nicht löslichen Theile der Asche befindet, wird mit den geschilderten Vorsichtsmassregeln gleichfalls durch oxalsaures Ammoniak gefällt und zwar der vorher an Phosphorsäure gebundene in der essigsauren Lösung; der Niederschlag wird nach dem Erwärmen der Flüssigkeit auf einem kleinen Filter gesammelt, ausgewaschen, getrocknet und geglüht, so wie es oben angegeben ist. Genauer als durch oxalsaures Ammoniak können Kalk und Magnesia durch Schwefelsäure und Alkohol getrennt werden, besonders wenn die Substanz neben viel Magnesiasalz sehr wenig Kalksalz enthält, doch ist dies Verfahren etwas umständlich (vergl. Chizinsky, Zeitschr. f. analyt. Chem. IV. S. 348).

207. Zur Bestimmung der Magnesia ist es stets erforderlich, dass der Kalk bereits aus der Lösung völlig entfernt ist, in welcher Magnesia gefällt werden soll. Man benutzt somit zu dieser Bestimmung das Filtrat, welches beim Abfiltriren des oxalsauren Kalkes gewonnen wird und welches man zunächst, wenn es zu voluminös geworden sein sollte, durch Abdampfen concentrirt. Es ist ferner wichtig, dass die Flüssigkeiten, in denen der Kalk durch Ammoniak oder oxalsaures Ammoniak gefällt werden soll, hinreichend Chlorammonium enthalten, so dass durch das Aetzammoniak nicht Magnesia als Hydrat ausgefällt wird.

Aus der hinreichend concentrirten, völlig kalkfreien Lösung wird die Magnesia dann durch phosphorsaures Natron gefällt, nachdem dieselbe mit Ammoniak stark übersättigt ist. Enthielt die Flüssigkeit bereits Phosphorsäure und waren die Salze derselben nur durch Essigsäure in Lösung erhalten, so genügt die Uebersättigung mit Aetzammoniak zur Ausfällung der Magnesia. Hat man die Flüssigkeit stark ammoniakalisch gemacht, so lässt man sie mit dem gebildeten Niederschlage mindestens 12 Stunden bedeckt stehen, sam-

*) Zeitschr. f. anal. Chem. 1879. S. 404.

melt dann den Niederschlag auf einem kleinen Filter, wäscht mit einer Mischung von etwa 1 Volumen Aetzammoniak und 3 Volumen Wasser gut aus, trocknet das Filter mit dem Niederschlage im Luftbade, schüttet den trocknen Niederschlag in ein gewogenes Porcellantiegelchen aus, legt das zusammengefaltete Filterchen dazu und erhitzt nun sehr allmälig, schliesslich aber zum stärksten Glühen und so lange, bis höchstens ganz unbedeutende Spuren von Kohle noch zu bemerken sind. Es ist nicht räthlich, zu früh stark zu erhitzen, und es ist auch in der stärksten Hitze zuweilen schwierig, die Masse völlig weiss zu erhalten. Man lässt dann den Tiegel bedeckt, am Besten über Schwefelsäure, erkalten, wägt und berechnet nach Tabelle II im Anhange aus der gewogenen pyrophosphorsauren Magnesia das Magnesium.

Bestimmung von Schwefelsäure und Chlor durch Wägung.

208. Zur Bestimmung der Schwefelsäure wird eine gewogene oder gemessene Portion des Wasserauszugs der Kohle und Asche mit Salzsäure stark sauer gemacht und dann Chlorbarium hinzugefügt, so lange ein Niederschlag entsteht. Die auf dem Wasserbade erwärmte Flüssigkeit wird dann durch ein kleines Filter filtrirt, der Niederschlag auf demselben gesammelt, mit heissem Wasser gut ausgewaschen (kalt geht der Niederschlag leicht durchs Filter), getrocknet, geglüht und gewogen. Tabelle II giebt den dem gefundenen schwefelsauren Baryt entsprechenden Werth der Schwefelsäure.

Zur Bestimmung des Chlors mittelst Wägung fällt man die gewogene oder abgemessene Portion des Wasserauszugs der Kohle und Asche nach Ansäuern mit Salpetersäure und Erhitzen auf dem Wasserbade durch salpetersaures Silberoxyd, so lange ein Niederschlag entsteht, erwärmt bis der Niederschlag sich gut abgesetzt hat, sammelt den Niederschlag auf einem Filterchen, wäscht aus, bis das ablaufende Waschwasser durch Salzsäure nicht mehr getrübt wird, trocknet dann Filter und Niederschlag im Luftbade, schüttet das Chlorsilber (wenn so viel vorhanden ist) auf ein Stückchen Glanzpapier aus, faltet das Filter zusammen und verbrennt es zunächst durch Glühen im gewogenen Porcellantiegelchen. Nach dem Erkalten des Tiegelchen wird der Rückstand vom Filter, der metallisches Silber enthält, mit einigen Tropfen Salpetersäure übergossen und erwärmt, das Silber löst sich und wird dann durch ein paar Tropfen Salzsäure gefällt. Man dampft auf dem Wasserbade wieder zur Trockne ab,

schüttet vom Glanzpapier das noch nicht geglühte Chlorsilber in das Tiegelchen, erhitzt vorsichtig bis zum beginnenden Schmelzen des Chlorsilbers, lässt dann erkalten und wägt. Hinsichtlich der Berechnung des Chlorgehaltes aus dem Chlorsilber vergl. Tabelle II im Anhange.

Volumetrische Bestimmung des Chlorgehaltes der Aschen.

209. Zur Bestimmung des Chlorgehaltes der Aschen eignet sich sehr gut eine Lösung, welche von Liebig zur Ausfällung des Chlors aus dem Harne empfohlen ist. Zu ihrer Bereitung werden 29,063 Grm. reines geschmolzenes salpetersaures Silberoxyd in Wasser gelöst, diese Lösung bis zu einem Liter mit Wasser verdünnt, gut umgeschüttelt und vor dem Lichte geschützt gut verschlossen aufbewahrt.

Um nun zunächst eine Controle der Richtigkeit für diese Titrirflüssigkeit zu haben, wägt man etwa 1 Grm. reines geglühtes auch chlorkaliumfreies Steinsalz ab und löst es in so viel Wasser, dass die Lösung in 100 CC. 1 Grm. trocknes Chlornatrium enthält. Von dieser Lösung werden 20 CC. mit einer Bürette in ein Becherglas abgemessen, ein paar Tropfen einer concentrirten Lösung von neutralem chromsauren Kali hinzugefügt und aus einer Bürette die obige Silberlösung so lange zufliessen gelassen, bis der beim Einfallen der Tropfen entstehende Niederschlag auch nach gutem Mischen mit der Flüssigkeit roth bleibt. Die erste bleibende Rothfärbung des Niederschlags giebt an, dass die Flüssigkeit jeder Spur von Chlor beraubt und dass bereits ein Minimum Silber an Chromsäure gebunden ist. Man liest dann ab, wie viel Silberlösung zur Ausfällung des Chlors erforderlich gewesen ist. War die Silberlösung richtig angefertigt, so erfordern 20 CC. der Chlornatriumlösung, welche 0,2 Grm. NaCl enthalten, auch 20 CC. der obigen Silberlösung zur Ausfällung des Chlors.

Zur Ausführung der Titrirung des Chlors in einer Aschelösung (die jedoch neutral sein muss und daher, wenn sie alkalisch reagirt, zunächst mit Salpetersäure angesäuert, dann durch eine Messerspitze reinen kohlensauren Kalk neutralisirt wird) füllt man eine Bürette mit der obigen Silberlösung, misst oder wägt einen bestimmten Theil der zu untersuchenden Aschelösung ab, versetzt diese Flüssigkeit mit ein paar Tropfen der Lösung von chromsaurem Kali und lässt nun unter gutem Umrühren in kleinen Portionen schliesslich tropfenweise so lange die Silberlösung aus der Bürette dazufliessen, bis nach gutem

Umrühren der Niederschlag eine röthliche Färbung zu zeigen beginnt. Ist diese bleibende Aenderung der Farbe des Niederschlags eingetreten, so liest man ab, wie viel Silberlösung verbraucht ist, und berechnet daraus den Chlorgehalt der zur Bestimmung benutzten Quantität der Aschelösung und hierdurch den Gehalt der Asche selbst an Chlor.

1 CC. der obigen Silberlösung entspricht bei dieser Titrirung 10 Milligr. NaCl oder 6,07 Milligr. Chlor. Sind also z. B. 8,7 CC. Silberlösung verbraucht, bis die Endreaction, nämlich die bleibende röthliche Färbung des Niederschlags eintritt, so enthält die untersuchte Portion der Aschelösung 8,7 . 6,07 oder 52,8 Milligr. Chlor oder 87 Milligr. Chlornatrium. Die Methode der Chlorbestimmung mittelst titrirter Silberlösung und Schwefelcyanammoniumlösung nach Volhard*) giebt sehr genaue Resultate und hat den Vortheil, dass sie für salpetersaure Lösungen angewendet werden kann, ist jedoch umständlicher als die beschriebene Methode von Mohr, wenn es sich um Aschen handelt, während sie für Harne allein angewendet zu werden verdient; vergl. unten § 225.

Bestimmung der Phosphorsäure durch Wägung.

210. Um im wässerigen Auszuge der Asche die Phosphorsäure zu bestimmen, fällt man die abgewogene oder abgemessene Portion desselben mit Aetzammoniak, Chlorammonium und Magnesialösung, so wie es im § 203. 3. angegeben ist. Den Niederschlag behandelt man genau nach den im § 207 zur Bestimmung der Magnesia gegebenen Vorschriften.

Die Phosphorsäure des in Wasser nicht löslichen Theiles der Aschen wird je nach der Anwesenheit von mehr oder weniger Eisen zunächst zwar verschieden behandelt, endlich jedoch stets als Magnesia-Ammoniaksalz gefällt und nach den angegebenen Vorschriften gewaschen, getrocknet, geglüht und gewogen. Es ist unerlässlich, dass man den Niederschlag genau nach den § 207 angegebenen Vorschriften behandelt. Im Falle, dass eine kleine Quantität phosphorsauren Eisenoxyds sich nach § 204. 1. in der Asche gefunden hat, kann man diese, wie es in diesem Paragraphen angegeben ist, durch Essigsäure von anderen Phosphaten befreit auf einem kleinen Filter sammeln,

*) Liebig's Ann. Bd. 190. S. 1.

auswaschen, trocknen, glühen und wägen; man bringt es dann als phosphorsaures Eisenoxyd auch in Berechnung.

Eine sehr allgemein anwendbare Methode zur Bestimmung der Phosphorsäure bei Gegenwart von Ca, Mg, Fe hat Jean*) angegeben. Man löst die Substanz in Salpetersäure, fällt die Lösung durch geringen Ueberschuss von Ammoniak, fügt dann Citronensäure hinzu, bis der Niederschlag wieder gelöst und die Reaction sauer ist, versetzt mit genügender Quantität essigsauren Uranoxyds, lässt die Mischung einige Zeit kochen, filtrirt den gelben Niederschlag von phosphorsaurem Uranoxydammoniak ab, wäscht ihn mit kochendem Wasser aus, trocknet, glüht und wägt nach dem Erkalten. Die geglühte Masse enthält 20,04 pCt. Phosphorsäure P_2O_5.

Volumetrische Bestimmung der Phosphorsäure in Aschen).**

211. Essigsaures Uranoxyd 'giebt mit phosphorsauren Verbindungen in essigsaurer Lösung einen hellgrauen, flockigen, unlöslichen Niederschlag von constanter Zusammensetzung, welcher 19,81 pCt. P_2O_5 enthält und weder durch überschüssig zugesetztes essigsaures Uranoxyd noch durch Zusatz von Ferrocyankalium in seiner Zusammensetzung geändert wird.

Ferrocyankalium giebt in sauren Uranoxydlösungen einen dunkelbraunen Niederschlag, der selbst bei ausserordentlicher Verdünnung dieser Lösungen noch deutlich wahrzunehmen ist. Auf diese beiden Verbindungen des Urans gründet sich die Titrirung der Phosphorsäure, zu deren Ausführung man ausser einer Auflösung von Ferrocyankalium (deren Gehalt man nicht zu kennen braucht) die folgenden drei Flüssigkeiten anzufertigen hat:

1) Eine Lösung von phosphorsaurem Natron von bekanntem Phosphorsäuregehalte. Das käufliche phosphorsaure Natron ist gewöhnlich oberflächlich verwittert, man krystallisirt eine Portion aus heissem Wasser um, trocknet die Krystalle gut ab, zerreibt sie, presst zwischen Fliesspapier, löst 10,085 Grm. davon abgewogen in Wasser und verdünnt diese Lösung, bis sie gerade 1 Liter beträgt, mit Wasser.

Die so erhaltene Lösung soll in 100 CC. 0,2 Grm. P_2O_5 ent-

*) Compt. rend. T. 78. S. 1305. 1874.

**) Im Wesentlichen nach Neubauer, Neubauer und Vogel, Analyse des Harns. 1876. 6. Aufl. S. 169.

halten. Man misst von derselben 50 CC. ab, verdunstet in einer kleinen Porcellanschale auf dem Wasserbade, erhitzt den Rückstand zum lebhaften Glühen, lässt erkalten und wägt. Wenn die Lösung den richtigen Titer besitzt, so geben 50 CC. derselben nach Verdunsten und Glühen des Rückstandes 0,1874 Grm. phosphorsaures Natron.

2) Eine Lösung von Essigsäure und essigsaurem Natron. Man löst 100 Grm. krystallisirtes essigsaures Natron in etwas Wasser, fügt 100 CC. starke Essigsäure hinzu und verdünnt die Mischung im Literkolben bis zum Volumen eines Liter.

3) Titrirte Lösung von essigsaurem Uranoxyd. Man löst käufliches Uranoxyd oder kohlensaures Uranoxydnatron in einer besonders von brenzlichen Stoffen freien Essigsäure und verdünnt diese Lösung etwas mit Wasser. Nachdem man gut gemischt hat, füllt man mit dieser Lösung eine Bürette, misst mit einer anderen Bürette 50 CC. der obigen Lösung von phosphorsaurem Natron ab, lässt sie in ein Becherglas fliessen, fügt 5 CC. der Lösung von essigsaurem Natron und Essigsäure hinzu, stellt das Becherglas auf ein Wasserbad, erhitzt dies zum Kochen des Wassers und lässt nun aus der Bürette tropfenweise die essigsaure Uranlösung dazufliessen, so lange man die weitere Bildung eines Niederschlages deutlich beobachten kann. Man bringt dann nach gutem Umrühren einen Tropfen der Mischung auf eine weisse Porcellanplatte und lässt auf derselben einen Tropfen Ferrocyankaliumlösung mit einem anderen Glasstabe daneben gebracht von der Seite hinzufliessen. Entsteht beim Zusammenfliessen der Flüssigkeiten keine Farbenveränderung, so ist noch nicht alle Phosphorsäure ausgefällt, man fügt also wiederum einige Tropfen Uranlösung hinzu, rührt gut um, bringt wieder einige Tropfen der Mischung auf Porcellan mit einem Tropfen Ferrocyankaliumlösung zusammen u. s. w., bis endlich bei diesem Zusammenfliessen der Tropfen beider Flüssigkeiten eine leichte Braunfärbung an der Stelle, wo sie sich mischen, erkennbar wird. Diese Braunfärbung rührt von der Bildung von Uranferrocyanid her und beweist, dass bereits alle Phosphorsäure an Uranoxyd gebunden und noch ein geringer Ueberschuss von essigsaurem Uranoxyd in Lösung ist. Man liest jetzt ab, wie viel Uranlösung verbraucht ist, wiederholt die Prüfung mit Ferrocyankaliumlösung nach kurzem weiteren Erhitzen auf dem Wasserbade noch einmal; ist die Braunfärbung jetzt wesentlich stärker geworden, so wiederholt man die Bestimmung mit einer neuen Portion von 50 CC. der Phosphorsäurelösung, indem man die Uranlösung diesmal vor-

sichtiger zusetzt, bis gerade nach einigem Erhitzen eine Probe der Mischung mit einem Tropfen Ferrocyankaliumlösung schwach braune Färbung giebt. Hat man auf diese Weise erfahren, wie viel Uranlösung erforderlich ist, um 0,1 Grm. P_2O_5 zu fällen, so verdünnt man diese Lösung, bis 20 CC. derselben 0,1 Grm P_2O_5 oder 1 CC. derselben 0,005 Grm. P_2O_5 entsprechen.

Es sei z. B. gefunden, dass 50 CC. der Phosphorsäurelösung 5,4 CC. der Uranlösung verbrauchten, bis die braune Endreaction erschien, es mussten dann 14,6 CC. Wasser zu 5,4 CC. Uranlösung gesetzt werden, um die richtige titrirte Uranlösung herzustellen, und wenn im Ganzen 240 CC. solcher concentrirter Uranlösung zu Gebote ständen, so würde zu dieser Quantität $\frac{240 \,.\, 14{,}6}{5{,}4}$ oder 648,9 CC. Wasser zuzusetzen sein, um eine richtige titrirte Uranlösung zu erhalten, von der 1 CC. dann 0.005 Grm. P_2O_5 entspricht.

212. Die Bestimmung der Phosphorsäure in Aschen lässt sich nun mit der titrirten Uranlösung schnell ausführen, falls die Lösung der Asche frei von Eisenoxyd ist. Enthält aber die Asche Eisenoxyd, so neutralisirt man, falls nicht mehr Eisenoxyd da ist als die Phosphorsäure zu sättigen vermag (vergl. § 204. 1) die freie Salzsäure fast durch Ammoniak, fügt $^1/_{10}$ ihres Volumens von der obigen Lösung von Essigsäure und essigsaurem Natron hinzu, filtrirt den flockigen Niederschlag von phosphorsaurem Eisenoxyd ab, wäscht aus, trocknet den Niederschlag und bestimmt das phosphorsaure Eisenoxyd nach dem im vorigen Paragraphen angegebenen Verfahren. Das Filtrat durch Abdampfen ungefähr auf das frühere Volumen concentrirt titrirt man dann mit der Uranlösung.

Ist in der Asche mehr Eisenoxyd als die Phosphorsäure zu sättigen vermag (vergl. § 204. 2) so ist das Eisen zunächst von der Phosphorsäure zu trennen, nach Ausfällung und Abfiltriren des Schwefeleisens das Filtrat mit kohlensaurem Natron zu neutralisiren, zur Trockne einzudampfen, der Rückstand zu glühen, nach dem Erkalten wieder in Wasser zu lösen und nun nach Zusatz von $^1/_{10}$ Volumen der Essigsäure- und essigsauren Natronlösung mit Uranlösung zu titriren. Der Wasserauszug einer Asche kann stets ohne weitere Vorbereitung mit Essigsäuremischung versetzt und mit Uranlösung titrirt werden.

Diese Titrirung wird ganz in der nämlichen Weise ausgeführt, wie es oben zur Titerstellung der Uranlösung angegeben ist. Man

stellt die zu titrirende Flüssigkeit nach dem Mischen mit $^1/_{10}$ Volumen Essigsäuremischung aufs Wasserbad, erhitzt dieses, lässt Uranlösung aus einer damit gefüllten Bürette zu der Flüssigkeit in kleinen Portionen einfliessen, so lange man eine weitere Vermehrung des Niederschlags dabei zu erkennen vermag; ist dies nicht mehr deutlich zu unterscheiden, so bringt man nach gutem Umrühren einen Tropfen der Mischung auf einen Porcellanteller und lässt von der Seite einen Tropfen Ferrocyankaliumlösung hinzutreten, fliessen die Tropfen zusammen, ohne dass sich Braunfärbung zeigt, so kann man wieder eine kleine Portion Uranlösung in die zu titrirende Flüssigkeit einfliessen lassen, umrühren und nun abermals in der angegebenen Weise mit Ferrocyankaliumlösung prüfen u. s. w., bis endlich der Tropfen auf Porcellan mit Ferrocyankalium eine braune Färbung erhält. Man liest dann ab, wie viel Uranlösung verbraucht ist und erhält durch das Product der Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter mit 5 das Gewicht von P_2O_5 in Milligrammen, welches sich in der Flüssigkeit befindet, deren Titrirung man ausgeführt hat.

Man versäume nicht, noch ein paar Minuten auf dem Wasserbade zu erhitzen und dann abermals die Mischung in der angegeben Weise mit Ferrocyankalium zu prüfen; ist jetzt die Braunfärbung zu stark, so wiederholt man die Titrirung mit einer neuen Portion der Aschelösung unter vorsichtigerem Zusatz der Uranlösung.

So umständlich die angegebenen Vorbereitungen zur Titrirung der Phosphorsäure in Aschen mit Uranlösung zu sein scheinen, erfordern sie doch einerseits nicht viel Zeit und dann ist die Titrirung selbst sehr schnell ausführbar; sie ist auch hinreichend genau. Ganz besonders ist diese Methode zu empfehlen, wenn ganze Reihen von Phosphorsäurebestimmungen in Aschen auszuführen sind. Die Vorbereitungen werden eigentlich allein umständlich in der Blutasche wegen der Anwesenheit von viel Eisenoxyd, in bei Weitem den meisten Aschen z. B. des Harns, ist die Quantität des Eisenoxyds so gering, dass man die ganze Phosphorsäure der Asche ohne vorherige Trennung des phosphorsauren Eisenoxyds mit nicht bemerkbarem Fehler durch Titrirung bestimmen kann. Man verwendet zweckmässig zur Titrirung der Phosphorsäure eine Lösung, welche $^1/_4$ bis $^1/_2$ Grm. Asche enthält, doch lässt sich darüber natürlich nichts völlig allgemein vorschreiben.

Die von Liebig zuerst empfohlene Titrirung der Phosphorsäure mit Eisenchlorid steht der obigen mit Uranlösung weit an Genauigkeit nach.

Von Maly*) ist eine alkalimetrische Titrirmethode für Phosphorsäure angegeben, die in folgender Weise ausgeführt wird. Die nicht zu concentrirte Phosphatlösung wird in einen Kolben gebracht, eine angemessene aber überschüssige Portion

*) Zeitschr. f. anal. Chemie. Bd. 15.

von auf die Hälfte oder ein Viertel der Concentration verdünnter Normalnatronlauge hinzufliessen gelassen, ein Tropfen concentrirte Corallinlösung und eine beliebige Quantität Chlorbariumlösung hinzugefügt, das Ganze erhitzt und dann mit auf $^1/_2$ oder $^1/_4$ ihrer Concentration verdünnter Normalsalzsäure titrirt bis zur Neutralisation, also bis zum Verschwinden der Rosafärbung. Die Flüssigkeit ist während der Titrirung heiss zu erhalten. Bei diesem Verfahren wird die Phosphorsäure als $(PO_4)_2Ba_3$ vollständig ausgefällt und der Niederschlag braucht nicht abfiltrirt zu werden. Die vom ausgefällten Barium abgetrennte Chlorquantität, welche an Natrium gebunden ist, wird durch die Titrirung in leicht ersichtlicher Weise bestimmt.

Bestimmung des Eisengehaltes der Aschen.

213. Ist der Eisengehalt der Asche, welche zu untersuchen ist, so unbedeutend, dass die vorhandene Phosphorsäure das Eisenoxyd zu sättigen vermag und daher die salzsaure Lösung der Asche mit Ammoniak einen weissen Niederschlag giebt, so ist es am Zweckmässigsten, das in Essigsäure unlösliche phosphorsaure Eisenoxyd von den übrigen Phosphaten durch diese Säure getrennt auf einem Filterchen zu sammeln, zu trocknen, zu glühen und aus dem Gewichte dieses Niederschlages das Eisen zu berechnen. Der Niederschlag unter den angegebenen Verhältnissen erhalten, besitzt stets die Zusammensetzung $PFeO_4$ und enthält hiernach 52,98 pCt. Fe_2O_3 oder 37,09 pCt. Fe. In dieser Weise bestimmt man am Einfachsten und hinreichend genau das Eisen in der Asche von Harn, Serum, Transsudaten, Secreten, vergl. § 210.

Ist dagegen der durch Ammoniak in der salzsauren Lösung der Asche erhaltene Niederschlag röthlich gefärbt, also relativ zur Phosphorsäure mehr Eisen vorhanden als der Formel $PFeO_4$ entspricht, z. B. in der Asche des Blutes oder der bluthaltigen Organe, so bestimmt man den Eisengehalt am Bequemsten durch Titrirung mit Uebermangansäure nach dem folgenden Paragraphen.

Statt dessen kann man auch, wie es der qualitative in § 204. 2. beschriebene Gang vorschreibt, das Eisen von Kalk, Magnesia, Mangan, Phosphorsäure trennen; man erhält es dann als Schwefeleisenniederschlag. Man wäscht diesen Niederschlag mit schwefelammoniumhaltigem Wasser aus und hält während des Auswaschens den Trichter mit einer Glasplatte bedeckt, löst darauf den Niederschlag in verdünnter Salzsäure, kocht die Lösung mit starker Salpetersäure, bis sie gelb und klar geworden ist, filtrirt durch ein aschefreies Filter ausgeschiedenen Schwefel ab, und fällt im Filtrate durch überschüssiges

Ammoniak das Eisenoxydhydrat. Digerirt man die Flüssigkeit einige Zeit auf dem Wasserbade, so scheidet sich das Oxydhydrat gut flockig aus, man sammelt es auf kleinem aschefreien Filter, trocknet letzteres mit dem Niederschlage, glüht heftig bei Luftzutritt und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Im gewogenen Eisenoxyd ist 0,7 des Gewichtes Eisen enthalten.

Volumetrische Bestimmung des Eisens mit Uebermangansäure.

214. Eisenoxydulsalze werden durch Uebermangansäure in Eisenoxydsalze umgewandelt, während die Uebermangansäure selbst in der sauren Lösung in Manganoxydulsalz übergeht. Hat man nun in einer Flüssigkeit keine anderen leicht oxydirbaren Substanzen, so kann man alles Eisen in Oxydulsalz durch Reduction überführen, dann mit einer Uebermangansäurelösung von bekanntem Gehalte das Oxydul in Oxyd überführen und aus der Quantität der verbrauchten Uebermangansäurelösung berechnen, wie viel Eisen die Asche enthält.

Für diese Titrirung sind nur Büretten mit Glashahn ohne Kautschuk und ohne Fett verwendbar.

Die Lösung von Permanganat stellt man dar durch Auflösen von ungefähr 0,3 Grm. reinen krystallisirten übermangansauren Kalis in Wasser und Verdünnung der Lösung mit reinem destillirten Wasser auf 1 Liter. Die Lösung hält sich in reiner, mit Glasstopfen verschlossener Flasche unzersetzt, wenn sie von vorn herein rein war.

Man fertigt ferner eine Lösung von Eisensulfat an durch Auflösen von ungefähr 0,5 Grm. reinen blanken Eisendraht (Blumendraht, ungefähr 4 p. M. Kohlenstoff enthaltend), genau gewogen, in verdünnter eisenfreier Schwefelsäure (die mit Wasser verdünnte Säure darf in eine mässig concentrirte Lösung von Schwefelcyankaliumlösung getropft, keine Rothfärbung bewirken) in einem mit eingeriebenen Glaspfropfen verschliessbaren Kolben von wenigstens 300 CC. Rauminhalt auf dem Wasserbade. Man verdünnt die Lösung sogleich nach dem Erkalten auf bestimmtes Volumen (z. B. 300 CC.) bis zu einer Marke im Halse des Kolben mit frisch ausgekochtem Wasser.

Zur Reduction des Eisenoxydsalzes in den Aschen zu Eisenoxydulsalz verwendet man am Besten eine Lösung von schwefeliger Säure, eingeleitet in Wasser bis zur Sättigung, die gleichfalls in einer Flasche mit Glasstopfen aufzubewahren ist.

Man lässt dann aus einer Glashahnbürette 20 CC. der Eisensulfat-

lösung in einen Kolben fliessen, der ungefähr 100—150 CC. ausgekochten destillirten Wassers enthält, erhitzt zum beginnenden Sieden und lässt aus einer andern Glashahnbürette so lange von der Permanganatlösung hinzufliessen, bis die Rosafärbung nicht alsbald mehr verschwindet und liest die verbrauchten Cubikcentimeter Permanganatlösung ab. Dieselben entsprechen der Quantität Eisen in 20 CC. der Eisensulfatlösung von bekanntem Gehalte zu ihrer Ueberführung des Oxyduls in Oxyd.

Ist dies Verhältniss festgestellt, so wird die Bestimmung des Eisengehaltes in der Asche ausgeführt. Für solche Bestimmung genügen von Blut 50 CC., von Harn, Galle, Milch und anderen Flüssigkeiten oder Organen ist dagegen die 4—10fache Quantität zu verwenden. Die getrockneten Massen werden nach den in §§ 201 u. 202 gegebenen Vorschriften verascht; der salzsaure Auszug enthält das ganze Eisen. Derselbe wird in einer Platinschale mit überschüssiger reiner Schwefelsäure versetzt, über kleiner Flamme ohne Sieden verdampft und bis zum Beginn der Nebelbildung durch verdampfende Schwefelsäure erhitzt. Der Rückstand in Wasser gelöst wird in einen Kolben gespült, mehrmals mit Wasser nachgewaschen, ungefähr 20 CC. Lösung schwefeliger Säure zugesetzt, zum Sieden erhitzt und so lange im schwachen Sieden erhalten, bis weder Lackmuspapier noch Geruch eine Spur von schwefeliger Säure nachzuweisen vermögen.

Dann wird Permanganatlösung aus der Glashahnbürette so lange in einzelnen Portionen hinzugefügt, bis die Rosafärbung der Flüssigkeit beim Stehen in 10—20 Minuten nicht wieder verschwindet. Die Berechnung des Eisengehaltes in der untersuchten Substanz ist so einfach, dass sie nicht geschildert zu werden braucht.

Eingehende Beschreibungen dieser Bestimmungsmethode mit zahlreichen Cautelen vergl. in Huppert, Neubauer und Vogel, Anleitung zur qualit. und quantit. Analyse des Harns. 8. Aufl. 1881. S. 343.

Bestimmung des Mangan und der Kieselsäure.

215. Der Gehalt thierischer Aschen an Mangan ist meist zu unbedeutend, als dass er ohne Verwendung sehr grosser Aschenmengen irgend genau bestimmt werden könnte. Hat man das Mangan entsprechend dem § 104. 2. angegebenen Verfahren als Schwefelmangan gefällt, den Niederschlag auf kleinem Filter gesammelt oder besser durch Decantiren von der Flüssigkeit getrennt, mit schwefelammonium-

haltigem Wasser gewaschen, so bringt man ihn am Besten in ein Tiegelchen, trocknet und glüht bis zur völligen Veraschung des Filters. Nach dem Erkalten bestreut man die geglühte Masse mit etwas reinem Schwefelpulver, bedeckt den Tiegel mit einem in seiner Mitte durchbohrten Deckel, führt durch dies Loch die rechtwinklig umgebogene Spitze einer Glasröhre ein, die in den Tiegel hinabragend doch noch in genügendem Abstande von der Substanz am Boden des Tiegels sich befindet, leitet durch diese Röhre getrocknetes Wasserstoffgas, welches man aus Zink und verdünnter Schwefelsäure bereitet und in einem Rohre mit Chlorcalcium oder besser Natronkalk gefüllt trocknet, erhitzt, wenn die Entwickelung einige Zeit im Gange ist, den Tiegel zum lebhaftesten Glühen, so dass aller überschüssiger Schwefel entfernt wird, lässt im Wasserstoffstrome erkalten und wägt. Das Mangan wird bei diesem Verfahren in Mangansulfür verwandelt*).

Um die Kieselsäure in organischen Stoffen zu bestimmen, ist das Veraschen derselben in Platingefässen vorzunehmen und möglichst vollständig die Kohle durch Glühen zu entfernen. Man übergiesst dann die Asche mit Salzsäure und digerirt bis zur Lösung, verdampft zur Trockne und erhitzt auf dem Sandbade über 100°, bis keine sauren Dämpfe mehr entweichen, digerirt den Rückstand mit Salzsäure auf dem Wasserbade einige Zeit, verdünnt dann mit Wasser und bringt die allein ungelöst bleibende Kieselsäure auf ein kleines Filter, wäscht gut aus, trocknet, glüht und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Man prüft endlich die gewogene Kieselsäure auf ihre Reinheit durch Kochen mit mässig concentrirter Lösung von kohlensaurem Natron (ist sie rein, so löst sie sich hierbei klar auf) oder besser durch Abdampfen in concentrirter Lösung mit etwas Fluorammonium und Erhitzen zum Glühen, wobei sich die Kieselsäure verflüchtigt und die vorhandenen andern Stoffe gewogen werden können.

Bestimmung der Kohlensäure.

216. In den Aschen der Organe oder Flüssigkeiten höherer Thiere findet sich nur wenig kohlensaures Salz und es kann beim Veraschen durch Phosphorsäure Kohlensäure aus der Verbindung ausgetrieben, kohlensaurer Kalk auch durch das Glühen in Calciumoxyd umgewandelt werden. Aschen, in denen kohlensaure Verbin-

*) H. Rose in Pogg. Ann. Bd. 110. S. 122.

dungen bestimmt werden sollen, sind deshalb mit besonderer Vorsicht darzustellen.

Zur Bestimmung der Kohlensäure dient in allen Fällen der in Figur 11 abgebildete Apparat. Die Substanz, von welcher der CO_2gehalt bestimmt werden soll, wird in den Kolben *A* gebracht und etwas ausgekochtes destillirtes Wasser hinzugefügt, so dass nach Aufsetzen des Korkes die Einleitungsröhre mit der Oeffnung *a* unter dem Niveau desselben steht. Die Hähne von Glas *c* und *d* sind vorläufig beide geschlossen. Das zunächst an den Kolben angefügte Chlorcalciumrohr *F* ist grösstentheils mit Stücken von getrocknetem Chlorcalcium, von *f* bis *m* jedoch mit Bimsteinstücken, die mit Kupfervitriollösung getränkt und dann scharf erhitzt sind zur Entwässerung des Kupfervitriols, gefüllt. An dies Chlorcalciumrohr ist der Liebig'sche Kalikugelapparat *G* und hieran das U-röhrchen *H*, gefüllt mit Aetzkalistückchen, angefügt. Die Apparate *G* und *H*, der erstere mit starker Kalilauge in passender Weise gefüllt, sind vor dem Versuche genau zu wägen. Die Flaschen *K* und *M* enthalten Chlorcalciumstücke und die U-röhren *J* und *L* enthalten Natronkalk in kleinen Körnern. Diese Apparate *ML* und *KJ* verhindern, dass Kohlensäure von aussen in den Apparat gelangen kann, wenn Luft in der einen oder anderen Richtung hineindringt; die Apparate *KJ* verhindern zugleich den Zutritt von Feuchtigkeit aus der Luft zu den Kalistücken im Rohr *H*.

Ist nun die Substanz in *A* mit Wasser eingebracht und sind durch Kautschukröhrchen die Apparate mit einander verbunden, die Enden der Röhren *n* und *o* aber offen, so giesst man eine genügende Quantität reine starke Salzsäure in die Glashahnbürette *B*, deren Hahn geschlossen ist und deren verlängertes unteres Ende durch den Kautschukstopfen gesteckt in den Hals des Kolben *A* hinreichend tief hineinragt. Man lässt dann tropfenweise durch vorsichtiges Oeffnen des Hahns *c* Salzsäure in den Kolben *A* fallen, bewegt den Kolben etwas, wartet einige Zeit, wenn sich noch Gasblasen aus der Flüssigkeit entwickeln, lässt dann von Neuem einige Tropfen Salzsäure in den Kolben fliessen, bis keine weitere Gasentwickelung mehr zu bemerken ist. Jetzt erhitzt man den Kolben *A* sehr langsam, allmälig aber bis zum Sieden der Flüssigkeit, öffnet dann schnell den Hahn *d*, indem man die Flamme entfernt, verbindet den Kautschukschlauch *n* mit einem Aspirator und saugt langsam Luft durch die ganze Reihe der Apparate hindurch, bis das aus dem Aspirator abgelaufene Wasser

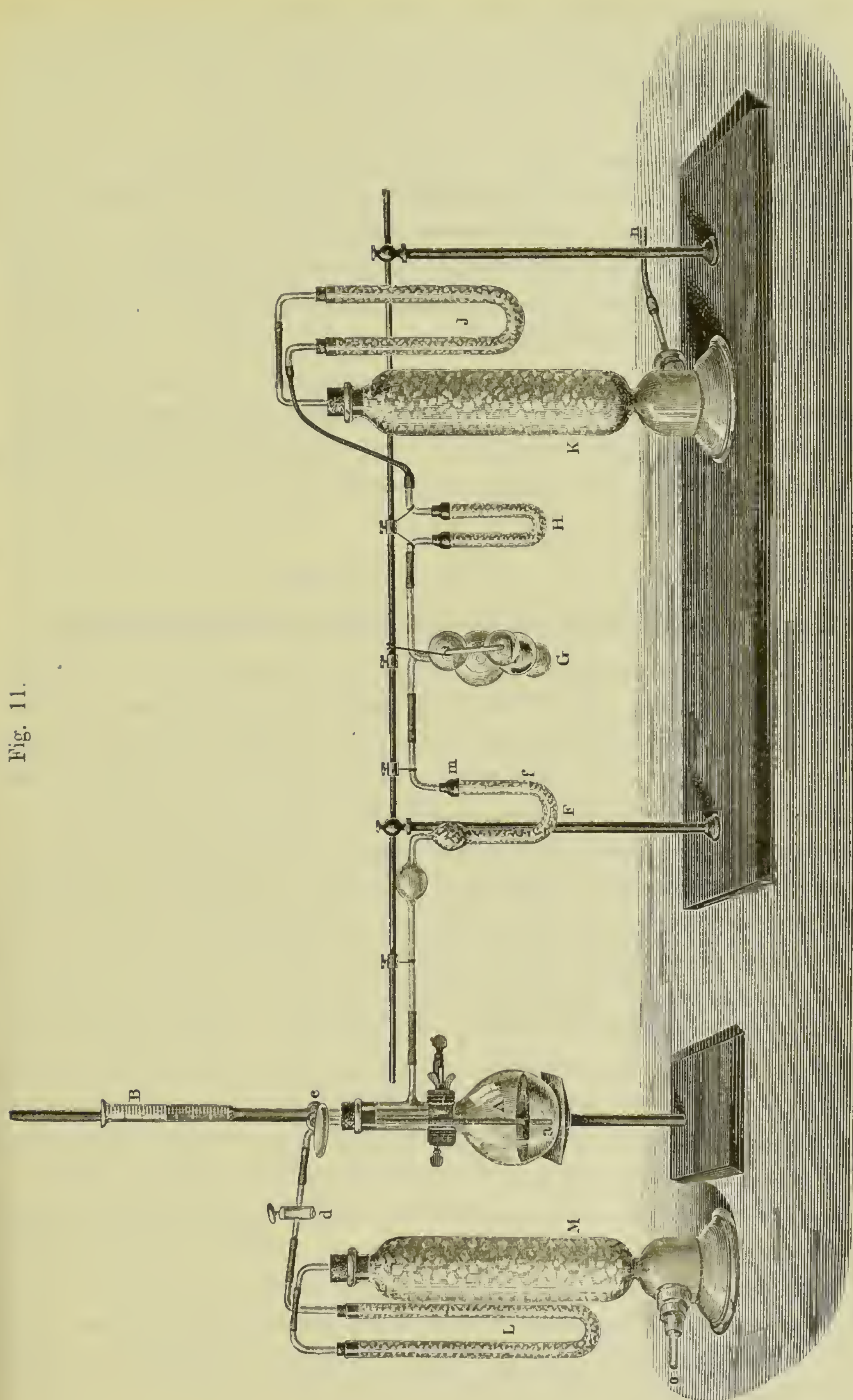


Fig. 11.

ungefähr das 10—15fache Volumen des Kolben *A* ausmacht. Dann werden die Kaliapparate *G* und *H* abgenommen und gewogen; ihre Gewichtszunahme ist das Gewicht der in der Substanz enthaltenen Kohlensäure.

Es ist besonders darauf zu achten, dass das Erhitzen der Flüssigkeit im Kolben *A* so langsam geschieht, dass der entweichende Luftstrom langsam durch die Kalilauge geht, dass man nur so weit das Sieden unterhält, bis sich etwas Wasser in der Kugel des Chlorcalciumrohrs *F* niederschlägt und dass man dann schnell den Hahn *d* öffnet, indem man die Flamme entfernt.

Der Apparat kann zu allen verschiedenen erforderlichen Kohlensäurebestimmungen dienen, die Resultate sind genau und die Operation einfach und leicht ausführbar. Die Füllung der Apparate kann meist für mehrere Bestimmungen hinter einander dienen.

Untersuchung des Harns.

Bestandtheile des Harns im normalen und pathologischen Zustande.

217. Mit Ausnahme der Vögel und der beschuppten Amphibien ist der Harn der sämmtlichen Wirbelthiere und ebenso der des Menschen im Wesentlichen eine Lösung von Harnstoff und anorganischen Stoffen, unter denen das Chlornatrium am Meisten vorherrscht. Bei einer nicht unbedeutenden Anzahl von Pflanzenfressern, besonders Säugethieren, enthält der Harn neben Harnstoff noch reichliche Quantitäten von Hippursäure, die bei Menschen und Fleischfressern entweder ganz fehlt oder nur in Spuren angetroffen wird; bei Vögeln und beschuppten Amphibien stellt der Harn einen Brei von Harnsäure und harnsauren Salzen dar und der Harnstoff findet sich darin meist nur in Spuren. Neben den reichlich enthaltenen genannten Stoffen finden sich im Harne des Menschen und der Säugethiere, so weit bis jetzt derselbe hinreichend untersucht ist, noch geringe Quantitäten von Milchsäure, Glycerinphosphorsäure, Kreatinin, Xanthin, Aetherschwefelsäuren aromatischer Substanzen wie Phenol, Kresol, Brenzcatechin, Indoxyl, Skatoxyl, ferner Hydroparacumarsäure, Paroxyphenylessigsäure, eines oder mehrerer den Harn gelb färbender Stoffe, die noch nicht näher bekannt sind, und etwas Schleim; von anorganischen Stoffen enthält der Harn ausser Chlornatrium noch die Phosphate von Natron, Kalk, Magnesia und schwefelsaures Alkali als constante Bestandtheile, seltener und nur bei Pflanzen-

nahrung auch kohlensauren Kalk. Ammoniaksalze fehlen, wie es scheint, im Harne nie ganz, doch ist im normalen Zustande ihre Quantität nur sehr gering. Während des Fötalzustandes scheiden Menschen und Rinder, ebenso wie einige Tage nach der Geburt, Allantoïn im Harne aus. Dasselbe ist auch im Harne erwachsener Thiere neuerdings nicht selten gefunden. Ausser diesen normalen Bestandtheilen kann der Harn in Krankheiten noch folgende Stoffe enthalten: Albumin, Caseïn, Fibrin, Methämoglobin, Gallenfarbstoffe, Gallensäuren, Leucin, Tyrosin, Cystin, Inosit (auch oft im normalen Urin), Fette, Lecithin. Spuren von Fermenten, z. B. Pepsin, sind gleichfalls im Harne gefunden.

Der normale und auch die meisten pathologischen Harne erhalten sich in reinen Gefässen bei kühler Temperatur mehrere Tage ziemlich unverändert, wenn nicht Fermente (Vibrionen etc.) hineingelangen.

Allgemeine Eigenschaften des Harns.

Geruch, Klarheit, Fluorescenz, Consistenz, spec. Gewicht.

218. Der Geruch des Harns von Menschen und Thieren ist noch nicht auf bestimmte chemische Stoffe zurückgeführt. Nachdem die Zersetzung des Harns durch Fäulniss begonnen hat, erhält der Harn stets einen deutlich ammoniakalischen Geruch, weil bei der Zersetzung des Harnstoffs Aetzammoniak entweicht.

Der frisch gelassene normale Harn von Menschen und fleischfressenden Säugethieren erscheint klar und durchsichtig, setzt aber doch nach kürzerem oder längerem Stehen ein Wölkchen von Schleim ab, in dem sich bald einzelne mikroskopische Octaëder von oxalsaurem Kalke einfinden. Ist der Harn getrübt, so lässt man ihn einige Stunden, am Besten in einem Spitzgläschen, an einem kühlen Orte stehen, giesst dann vom Sedimente ab und prüft Sediment und die nöthigenfalls noch filtrirte Flüssigkeit getrennt. Hinsichtlich der Sedimente vergl. § 253 und die folgenden Paragraphen.

Der Harn von Pflanzenfressern ist meist mehr oder weniger trübe durch Niederschläge von oxalsaurem oder kohlensaurem Kalk und Schleim.

Ausser der geringen Trübung, welche die suspendirten schleimigen Massen auch im normalen Harne erzeugen, zeigt der Harn von Menschen und Säugethieren meist auch eine bemerkbare wahre weissliche Fluorescenz; man weiss jedoch nicht, durch welche Stoffe dieselbe

bewirkt wird. Hinsichtlich der Untersuchung in dieser Richtung vergl. § 26.

Die Consistenz des Harns von Menschen und den meisten Säugethieren ist die einer gut tropfbaren Flüssigkeit; er besitzt weder Zähigkeit noch Klebrigkeit, pathologisch wird der Harn zuweilen gallertig durch reichliche Schleimbeimengung mit oder ohne Albumingehalt bei Blasenkatarrhen. Eine eigenthümlich zähe, schleimige Beschaffenheit zeigt häufig bei völliger Klarheit der Pferdeharn, so dass er beim Ausfliessen aus einem Gefässe sich in langen Fäden hinabzieht. Beim Kochen wird dieser Harn getrübt unter Ausscheidung von kohlensaurem Kalk und büsst dabei viel von seiner Zähigkeit ein. Dieser Pferdeharn enthält viel Schleim, ebenso wie der menschliche Harn bei Blasenkatarrh.

Mit Luft geschüttelt bildet der normale menschliche Harn Schaum, der in der Ruhe bald wieder verschwindet, ist der Harn dagegen eiweisshaltig oder enthält er viel Schleim, so bildet sich beim Schütteln ein feinblasiger langbleibender Schaum.

Das spec. Gewicht des Harns, welches stets am Einfachsten mittelst des Aräometers geprüft wird, schwankt bei menschlichen Harnen zwischen 1,000 und 1,050; Hundeharn kann bis über 1,060 spec. Gewicht haben; das durchschnittliche spec. Gewicht des menschlichen Harns mag etwa 1,014 betragen. Zeigt ein Harn sehr hohes spec. Gewicht, so ist Glycosurie zu vermuthen, ist dagegen diese Krankheit nicht vorhanden, so zeigt das spec. Gewicht im Ganzen Steigen und Fallen mit dem Harnstoffgehalt des Harns und mit dem Gehalte an Chlornatrium.

Farbe des Harns.

219. Ein mehr oder weniger gesättigtes Gelb ist die Farbe des normalen Harns von Menschen und fast allen Thieren, soweit dieselben überhaupt flüssigen Harn liefern; Pferde- und Rinderharn ist fast immer dunkler bräunlich gefärbt.

Eine sehr blasse Färbung zeigt der menschliche Harn bei grosser Verdünnung z. B. bei Diabetes, Chlorose und Hydrämie, chronischen Rückenmarkskrankheiten.

Eine dunkle bräunliche bis schwarze Farbe des Harns kann nicht wohl bedingt sein durch reichlichen Gehalt an normalen Harnfarbstoffen, aber auch ein ganz normal gelb gefärbter Harn kann

beim Stehen dunkler, obwohl höchstens hellbraun gefärbt werden. Nach Einführung von Phenol, Kresol, Brenzcatechin wird der Harn dunkelbraun, ebenso durch Gerbsäuren, Indol.

Auch durch Gallenfarbstoffe, durch Methämoglobin (Vergiftung mit Arsenwasserstoff, Hämaturie der Rinder) kann sehr dunkle Färbung des Harns bedingt sein. Beim Eindampfen in der Hitze wird die Farbe des Harns meist dunkler.

Rothe Farbe bekommt der Harn oft in Digestionsstörungen und fieberhaften Krankheiten durch reichlichen Gehalt an Urobilin. Diese Rothfärbung der Flüssigkeit ist zu unterscheiden von einer durch mikroskopische Untersuchung der Sedimente leicht zu entdeckenden Rothfärbung des Harns durch Blutkörperchen.

Auch durch Chrysophansäure (Rhabarber, Sennesblätter) wird der Harn mehrere Tage nachher roth gefärbt, wenn er alkalisch ist; auf Zusatz überschüssiger Säure wird er aber in diesem Falle sofort goldgelb und diese Veränderung der Farbe tritt nicht ein, wenn die Röthe durch die § 166 beschriebenen Farbstoffe bewirkt ist.

Eine gelbgrüne oder grüne Färbung zeigt der Harn oft bei Gelbsucht wegen Gehalt an Gallenfarbstoffen.

Eine blaue Färbung auch blaues Häutchen oder Sediment von dieser Farbe wird im Harne wohl nur durch Bildung von Indigo aus Indoxylschwefelsäure erzeugt; der frische Harn zeigt nie diese Färbung.

Zur relativen Feststellung des Gehaltes der Harne an Harnfarbstoff hat Vogel*) ein Verfahren angegeben, das jedoch so lange noch ziemlich nutzlos erscheinen muss, bis man etwas über die normalen färbenden Bestandtheile des Harns weiss.

Zur Vergleichung zweier Harne hinsichtlich der Farbe kann man sich am Besten der Glaskästchen bedienen, wie sie § 269 beschrieben sind. Durch Verdünnung eines gemessenen Volumen von dunklerem Harne mit gemessenen Wassermengen aus einer Bürette, bis der so verdünnte Harn in gleicher Dicke der Schicht im durchfallenden Lichte betrachtet dem anderen Harne an Farbenintensität gleich geworden ist, kann man bei gleicher Durchsichtigkeit beider Harne einen Ausdruck für die Sättigung ihrer Farbe erhalten.

---

*) Neubauer und Vogel, Anl. z. Anal. des Harns. 6. Aufl. S. 151.

Reaction des Harns.

220. Die Reaction des Harns ist im Ganzen abhängig von der Nahrung, sie ist sauer bei Menschen und Thieren während des Hungerzustandes und bei Fleischkost, neutral oder alkalisch bei vegetabilischer Nahrung. Der frisch gelassene Harn von Menschen und Fleischfressern verdankt die saure Reaction, so lange er frisch ist, seinem Gehalte an saurem phosphorsauren Alkali; beim Stehen verringert sich meist allmälig der Säuregrad, während zugleich, wie oben erwähnt ist, die Färbung dunkler wird, sich Epithelreste und oft auch Harnsäure absetzen.

Wenn man sich überzeugen will, ob die saure Reaction eines Harns ausser dem sauren Phosphat noch von freien nicht flüchtigen organischen Säuren bewirkt wird, fällt man den Harn mit einem grossen Ueberschuss von Alkohol, filtrirt, verdampft bei mässiger Erhitzung in flascher Schale auf dem Wasserbade zum sehr kleinen Volumen, fällt nochmals mit absolutem Alkohol und prüft das wieder verdunstete Filtrat mit Lackmus. Die Untersuchung auf flüchtige fette Säuren im Harne wird nach dem § 71 angegebenen Verfahren ausgeführt. Rührt die saure Reaction des Harns nur von sauren Phosphaten her, so nimmt das Alkoholextract keine saure Reaction an, während der durch den Alkohol gefällte Niederschlag mit Wasser befeuchtet intensiv sauer reagirt.

Alkalische Reaction des Harns kann bewirkt sein durch phosphorsaures Natron ($PHNa_2O_4$) oder kohlensaures Natron oder Ammoniak. Ist letzteres die Ursache, so bläut sich ein über dem Harne aufgehängter, vorher angefeuchteter rother Lackmuspapierstreifen binnen kurzer Zeit, ist dagegen kohlensaures Natron die Ursache, so giebt der durch Abdampfen stark concentrirte (und wenn ein Niederschlag sich gebildet hat, filtrirte) Harn mit Salzsäure Aufschäumen durch Entweichen von Kohlensäure. Lässt man kleine Mengen eines durch Ammoniak alkalisch reagirenden Harns in flacher Schale oder auf Papier an der Luft verdunsten, so tritt im Rückstand oft intensiv saure Reaction ein. Beim Sieden verliert der Harn stets Ammoniak und die Reaction wird sauer.

Zur Bestimmung des Säuregrades vom Harne kann man sich einer titrirten sehr verdünnten Natronlauge bedienen, die man zu einem gemessenen Volumen Harn so lange aus einer Bürette zufliessen lässt, bis Lackmuspapier durch das Gemisch gerade violett gefärbt erscheint.

Eine solche verdünnte Natronlauge erhält man entweder sehr einfach dadurch, dass man die Mohr'sche Normalnatronlauge, von welcher 1 CC. 0,031 Grm. Na_2O entspricht (vergl. § 223 Anmerkung), auf $^1/_{10}$ ihrer Concentration verdünnt, oder man löst 10 Grm. reine trockene Krystalle von Oxalsäure in Wasser, verdünnt zu einem Liter Lösung und fertigt sich nun eine verdünnte Natronlauge an, von welcher 10 CC. gerade 10 CC. dieser Oxalsäurelösung neutralisiren, so dass einige Tropfen zugefügter Lackmustinctur oder besser Blauholztinctur gerade violett gefärbt werden.

Um nun die Bestimmung des Säuregrades eines Harns auszuführen, misst man von demselben 100 CC. in ein Becherglas ab und lässt aus einer Bürette die Natronlauge zufliessen, bis Lackmuspapier durch die Mischung weder blau noch roth, sondern violett gefärbt wird. Die Prüfung mit Lackmuspapier ist dem Zusatz der Tinctur vorzuziehen, weil die gelbe Farbe des Harns die Genauigkeit der Unterscheidung des bei der Neutralität eintretenden Farbenwechsels erheblich beeinträchtigt und überhaupt die Beobachtung der Aenderung der Farbe auf weissem Papier sicherer ist.

Bestimmung der festen Stoffe des Harns.

221. Wenn man Harn auf dem Wasserbade verdunstet, so erhält man einen syrupartigen Rückstand, der nie völlig trocknet und fortdauernd Spuren von Ammoniak entwickelt. Die Ursache der Ammoniakentwickelung ist die Einwirkung des sauren Natronphosphats auf den Harnstoff in sehr concentrirter Lösung; der Harnstoff wird nämlich beim starken Eindampfen der wässerigen Lösung durch dies Salz zerlegt zu Kohlensäure und Ammoniak, Ammoniak verbindet sich mit dem Phosphat zu $PNa(NH_4)_2O_4$, aber diese Verbindung zerlegt sich fortwährend wieder bei 100° unter Entwickelung von Ammoniak.

Um nun trotz dieser unvermeidlichen Zersetzung eine Vorstellung vom trocknen Rückstande des Harns zu erhalten, hat Neubauer folgende Methode angewendet*): Durch ein cylindrisches aus Blech gefertigtes Wasserbad geht in der Mitte senkrecht zur Axe des Cylinders ein Blechrohr von $2^1/_2$ bis 3 Cm Durchmesser, in welches ein Glasrohr eingeschoben werden kann, in dem sich wieder ein Porzellanschiffchen befindet. Das Porzellanschiffchen ist zu $^2/_3$ mit nicht zu kleinen Glassplittern gefüllt, und ist etwa 7 bis 8 Cm lang und 1,4 Cm. breit. Die Glasröhre, in dem sich das Schiffchen befindet, ist an einem Ende zu einer feineren längeren Röhre ausgezogen, die rechtwinklig gekrümmt nach abwärts durch den doppelt durchbohrten Kork in einen Kolben, der ein abgemessenes Volumen titrirter Schwefelsäure enthält, eintritt und unter dem Niveau der Säure

*) Neubauer und Vogel, Anleitung u. s. w. 6. Aufl. S. 146.

mündet; in die andere Bohrung des Korkes ist ein Glasröhrchen, welches den Luftraum im Kolben mit einem Aspirator verbindet, eingefügt. Das andere Ende der Glasröhre, welche das Porzellanschiffchen enthält, ist durch einen Kork verschlossen, in welchem eine mit Chlorcalciumstücken gefüllte Röhre eingesteckt ist.

Man trocknet zunächst das Porzellanschiffchen mit den Glasstücken und wägt es in einer Röhre, die mit einem mit Stanniol überzogenen Korke verschlossen ist, lässt dann genau 2 CC. Harn aus einer feinen Pipette in das Schiffchen fliessen, schiebt dies in die oben beschriebene an einem Ende ausgezogene Röhre, verschliesst letztere, heizt das Wasserbad und lässt einen mässigen Luftstrom etwa 3 Stunden erst durch das Chlorcalciumrohr, dann über das Schiffchen mit Harn, von da durch das Kölbchen mit titrirter Säure hindurchgehen, wägt darauf wieder das Schiffchen mit dem Harnrückstand in demselben Glasrohre, in dem es vor der Einbringung des Harns gewogen war. Man spült nun das Glasrohr, in welchem das Schiffchen erhitzt wurde, mit Wasser aus und lässt dies Spülwasser in das Kölbchen mit Schwefelsäure einfliessen, nimmt dann dies Kölbchen ab, fügt etwas Lackmuslösung zur enthaltenen Schwefelsäure, bestimmt mit einer sehr verdünnten Natronlauge, wie viel Schwefelsäure während des Trocknens durch Ammoniak neutralisirt ist, und berechnet hieraus die Menge des zersetzten Harnstoffes. Der im Schiffchen gewogene feste Rückstand des Harns addirt zur Quantität von Harnstoff, welche dem in der titrirten Schwefelsäure gefundenen Ammoniak entspricht, giebt dann den wirklichen Ausdruck für das Gewicht der in 2 CC. Harn gelösten Stoffe.

Da es im Ganzen selten von Belang ist, zu wissen, wie viel Wasser und wie viel feste Stoffe ein Harn enthält, möge diese kurze Darstellung der umständlichen Methode genügen, deren genauere Beschreibung in der Anleitung von Huppert, Neubauer und Vogel, 8. Aufl. S. 230. zu finden ist.

Aufsuchung der einzelnen anorganischen Stoffe im Harn ohne vorhergehende Veraschung.

222. Die Untersuchung auf die einzelnen feuerbeständigen anorganischen Stoffe kann in vielen Fällen ohne weitere Vorbereitungen im frischen Harn vorgenommen werden. Enthält der Harn Albuminstoffe, so werden dieselben vorher durch Kochen unter Zusatz von etwas Essigsäure entfernt und nun das Filtrat untersucht. Bei dieser Behandlung bleibt aber ein Theil der phosphorsauren Erden und Eisenoxyd im Coagulum und können nur nach Veraschung desselben aufgefunden werden.

Der qualitative Nachweis von Schwefelsäure, Phosphorsäure, Chlor, Kalk u. s. w. kann dann in der in den §§ 203 und 204 geschilderten Weise ausgeführt werden, nur hat man sich bei den meisten der erhaltenen Niederschläge zu vergewissern (durch Glühen derselben auf Platinblech), ob sie nicht Harnsäure, harnsaures Ammoniak, Hippursäure, Schleim enthalten.

Speciell das Verhältniss der Phosphorsäure zu den Basen kann man dadurch ermitteln, dass man den Harn mit Aetzammoniak fällt; phosphorsaures Eisenoxyd, phosphorsaurer Kalk und phosphorsaure Magnesia-Ammoniak werden gefällt; diejenige Portion Phosphorsäure, welche durch diese Basen nicht gesättigt ist, bleibt in Lösung und kann nach Abfiltriren jener Niederschläge im Filtrate durch Zusatz von ammoniakalischer Magnesialösung gefällt werden.

Auf Kalium prüft man den Harn durch Fällung mit Platinchlorid unter Zusatz von Alkohol und Untersuchung des durch Filtration oder Abgiessen getrennten Niederschlags mit dem Spectralapparate. Der Niederschlag enthält nämlich stets Ammoniak und seine Enstehung im Harne ist also für sich allein kein genügender Nachweis des Kalium, vergl. folgenden Paragraphen.

Natrium enthält jeder Harn, dagegen fehlt in pathologischen Harnen öfter das Chlor. Giebt ein Harn mit Salpetersäure und salpetersaurem Silberoxyd keinen Niederschlag, so ist er frei von Chlor.

Untersuchung des Harns auf Ammoniak und quantitative Bestimmung desselben.

223. Enthält ein Harn frisch gelassen bereits Krystalle von phosphorsaurer Magnesia-Ammoniak, so ist nicht daran zu zweifeln, dass er reich an Ammoniak ist; dasselbe ist dann auch durch den Geruch nachzuweisen, und der Harn entwickelt mit Säure gemischt reichlich Kohlensäure. Ein solcher Harn wird aber nur dann entleert, wenn bereits in der Blase Fäulniss des Harns eingetreten ist.

Um in einem neutral oder sauer reagirenden Harne Ammoniaksalze nachzuweisen, versetzt man denselben mit etwas Alkohol, filtrirt, wenn ein Niederschlag entsteht, fügt zum Filtrat einige Tropfen Platinchlorid, lässt einige Stunden stehen, giesst die Flüssigkeit von den ausgeschiedenen Platindoppelsalzen ab, spült den Niederschlag mit etwas Spiritus ab und prüft ihn nach dem Trocknen in einem gleichfalls getrockneten Kölbchen durch Erhitzen. Enthält er Ammoniumplatinchlorid, so sublimirt beim starken Erhitzen Salmiak, der sich weiter oben im Röhrchen als weisse, aus feinen federartigen Nadeln bestehende Masse niederschlägt.

Man kann ferner noch kürzer den Harn auf Ammoniak prüfen, indem man denselben mit einer Mischung von Bleizuckerlösung und Bleiessig fällt, filtrirt und das Filtrat in der Kälte in einem Kolben

mit Kalkmilch versetzt, den Kolben mit einem Stopfen verschliesst, an dem ein angefeuchteter Streifen Curcumapapier befestigt ist, welcher die Flüssigkeit noch nicht berührt. Man lässt einige Zeit stehen und beobachtet dann, ob Bräunung des Papiers eingetreten ist; sie tritt wohl immer wenigstens in geringem Grade ein*).

Zur quantitativen Bestimmung des Ammoniak im Harne hat Neubauer folgendes Verfahren von Schlösing empfohlen: Man bereitet eine titrirte Schwefelsäure durch Mischen von 14 Grm. Schwefelsäurehydrat mit 200 Grm. destillirtem Wasser, bestimmt, nachdem das Gemisch erkaltet ist, mindestens zweimal in 10 CC. desselben durch Fällung mit Chlorbarium u. s. w. (vergl. § 208) den Schwefelsäuregehalt. Man titrirt dann auf diese verdünnte Schwefelsäure eine Natronlauge**). Das Verfahren beruht dann darauf, dass unter eine Glasglocke, die mit abgeschliffenem Rande auf einer Glas-

---

*) Huppert, Neubauer und Vogel, Anleitung etc. 8. Aufl. S. 112.

**) Zu dieser Bestimmung des Ammoniakgehaltes, ebenso zu der des festen Rückstandes im Harne § 221, ferner zur Bestimmung der freien Säure im Harne kann die Normalsäure von Mohr und die ihr entsprechende Natronlauge in Anwendung gezogen werden. Man fertigt dieselben zweckmässig in folgender Weise an: 1) 53 Grm. trockenes reines kohlensaures Natron, wie man es durch Erhitzen von doppelt kohlensaurem Natron leicht erhält, werden abgewogen, in Wasser gelöst und zu 1 Liter Lösung verdünnt. Man verdünnt nun 2) eine Portion reiner Schwefelsäure mit etwa dem 20fachen Volumen Wasser, indem man erstere in letzteres eingiesst, und fertigt endlich 3) eine verdünnte Natronlauge an, indem man am Besten frisch aus kohlensaurem Natron und Kalkmilch bereitete Lauge durch Decantiren gut von Kalk befreit oder eine concentrirtere Lauge zunächst bis zu etwa 1,10 spec. Gew. mit Wasser verdünnt. Man lässt 10 CC. der obigen Sodalösung aus einer Bürette in einen kleinen Kolben fliessen, fügt einige Tropfen Lackmus- oder Blauholztinctur und dann aus einer zweiten Bürette 20 CC. der verdünnten Schwefelsäure hinzu, erhitzt zum Kochen, um die Kohlensäure völlig auszutreiben und lässt nun aus einer dritten Bürette von der obigen Natronlauge in kleinen Portionen so lange zufliessen, bis die Farbe der Flüssigkeit nach dem Umschütteln gerade bleibend violett geworden ist. Man liest nun ab, wie viel Natronlauge man verbraucht hat und wiederholt dann denselben Versuch, indem man aber 20 CC. Sodalösung dazu abmisst. Waren beim ersten Versuche 14,4, beim zweiten 5,7 CC. Natronlauge verbraucht, so entsprechen 14,4 — 5,7 oder 8,7 CC. Natronlauge gerade 10 CC. der Sodalösung; es sind also je 8,7 CC. dieser Lauge mit 1,3 CC. Wasser zu verdünnen, um ihr gleichen Natrongehalt zu geben. Ist somit die Normalnatronlauge angefertigt, so misst man 10 CC. von der verdünnten Schwefelsäure ab, versetzt mit ein wenig Lackmus- oder Blauholztinctur und lässt aus einer Bürette die Normalnatronlauge so lange in kleinen Portionen zufliessen, bis die Neutralität erreicht ist. Sind nun hierzu z. B. 14,7 CC.

platte mit etwas Talg luftdicht aufgesetzt wird, eine Schale mit 10 CC. der obigen titrirten Schwefelsäure, darüber auf einem Dreieck von Glas eine etwas kleinere Schale enthaltend 10 oder besser 20 CC. des zu prüfenden zuvor filtrirten Harns mit 10 CC. Kalkmilch unmittelbar vor dem Einbringen versetzt aufgestellt werden und dass man nun das Ganze 3 Tage ruhig stehen lässt. Man prüft dann, wie viel Natronlauge die 10 CC. Schwefelsäure in der Schale weniger verbrauchen bis zur neutralen Reaction, als der Titer der Lauge und der Säure ergab, und berechnet daraus die Quantität Aetzammoniak, welche aus dem Harne in die Säure übergetreten ist.

Die Bestimmungen von Salkowski und von Munk*) haben für die Untersuchungen des Menschen-, Hunde- und Kaninchenharn ergeben, dass diese Methode gute Resultate liefert. Die Verwendung von Sodalösung an Stelle der Kalkmilch ist durchaus zu verwerfen.

Für gewisse Fälle eignet sich die etwas umständlichere Methode von Schmiedeberg**), nach welcher 200 CC. des Harns mit überschüssigem Platinchlorid und dem 5—6fachen Volumen Alkohol und Aether versetzt, 24 Stunden stehen gelassen, abfiltrirt und getrocknet, dann mit Zink und Salzsäure reducirt werden. Die filtrirte Flüssigkeit wird in eine Retorte gebracht und mit überschüssiger Magnesia mit Liebig'schen Kühler destillirt, das übergehende Ammoniak in bestimmter Quantität Normalschwefelsäure aufgefangen, die gesammte Flüssigkeit in der Vorlage auf kleineres Volumen verdampft, dann mit Normalnatronlauge bis zur Neutralität titrirt. Resultate nach Munk***) bis 10 pCt. zu niedrig.

---

verbraucht, so hat man je 10 CC. der Schwefelsäure mit 4,7 CC. Wasser zu versetzen, um die Normalschwefelsäure, d. h. eine verdünnte Schwefelsäure von 49 Grm SH_2O_4 im Liter zu erhalten, von welcher 1 CC. gerade 1 CC. der Normalnatronlauge, welche 31 Grm. Na_2O im Liter enthält, entspricht. 1 CC. dieser Normalflüssigkeiten entspricht genau 0,017 Grm. NH_3; sie entsprechen im Liter in Grammen, im Cubikcentimeter in Milligrammen den Mischungsgewichten der Säuren und Basen und es ist daher leicht damit zu rechnen. Die Anfertigung der Flüssigkeiten ist leicht und schnell auszuführen und wenn dieselben gut verschlossen aufbewahrt werden, bleiben sie lange Zeit unverändert.

*) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 69. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2. S. 35.

**) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 7. S. 148.

***) a. a. O.

Bestimmung der Schwefelsäure im Harne nach Baumann*).

224. Für die Bestimmung des Schwefelsäuregehaltes im Harne sind etwa vorhandene Albuminstoffe zunächst durch Aufkochen einer gemessenen Portion von 100 CC. unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure bis zur guten Klärung, Filtriren und Auswaschen des Niederschlags zu entfernen. Ist der Harn ursprünglich eiweissfrei, so sind 50 bis 100 CC. davon genau abzumessen, mit dem gleichen Volumen Wasser zu versetzen (dieser Wasserzusatz ist bei dem von Eiweiss befreiten Harne wegen des Waschwassers nicht nöthig), mit Essigsäure anzusäuern, mit Chlorbarium in mässigem Ueberschusse zu versetzen, auf dem Wasserbade zu digeriren, bis der Niederschlag sich gut abgesetzt hat, dann zu filtriren durch ein mit verdünnter Salzsäure, dann mit Wasser gewaschenes Filter, der Niederschlag auf dem Filter zu sammeln, zuerst mit Wasser, dann mit verdünnter Salzsäure, zuletzt wieder mit Wasser das Bariumsulfat zu waschen, zu trocknen, im Platintiegel zu glühen und zu wägen. Die gesammten Filtrate vereinigt, werden noch mit etwas Salzsäure versetzt und erhitzt, bis der bei genügend vorhandenem Chlorbarium neu entstandene Niederschlag von Bariumsulfat sich gut abgesetzt hat. Der letztere wird dann gleichfalls auf einem mit Salzsäure gewaschenen Filter gesammelt, zuerst mit Wasser, dann zur Entfernung harziger Substanzen mit Alkohol gewaschen, getrocknet, geglüht und gewogen.

Dieser zweite Niederschlag ergiebt die Quantität der im Harne als aromatische Aetherschwefelsäure enthaltene Schwefelsäure (B) und der erste Niederschlag von Bariumsulfat die Menge der Schwefelsäure (A), welche sich im Harne als einfaches anorganisches Sulfat befunden hat.

Salkowski**) hat eine Modification dieses Verfahrens in Anwendung gezogen, nach welcher die nicht gepaarte Schwefelsäure durch eine Mischung von 2 Vol. Barytwasser und 1 Vol. Chlorbariumlösung gefällt und dann im Filtrate wie oben die gepaarte Schwefelsäure bestimmt wird.

Bestimmung des Chlorgehaltes im Harne. Methode von Volhard*).**

225. Die zahlreichen Methoden zur Bestimmung des Chlorgehaltes im Harne, die vor und neben dem Volhard'schen Verfahren em-

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. S. 70.
**) Arch. f. path. Anat. Bd. 79. S. 551.
***) Liebig's Ann. Bd. 190. S. 24.

pfohlen und zum Theil lange Zeit in Geltung gewesen sind, stehen demselben an Genauigkeit oder schneller Ausführung so weit nach, dass die eine oder andere derselben wohl jetzt noch der Kürze wegen zur Ermittelung approximativer Werthe in Anwendung gezogen werden kann, dieselben im Uebrigen aber im Wesentlichen nur historisches Interesse besitzen.

Das oben § 209 erwähnte Titrirungsverfahren kann im Harne genaue Resultate nicht liefern, weil der Harn mehr oder weniger andere Stoffe enthält, welche durch Silbernitrat gefällt werden. Bei mittlerem Chlorgehalt ist das Verfahren nur für Näherungswerthe brauchbar, wenn man nicht zu wenig neutrales Kaliumchromat zufügt und für 10 CC. Harn 1 CC. der verbrauchten Silberlösung in Abzug bringt und aus dem Rest den Chlorgehalt berechnet. Der Fehler wird im Ganzen um so grösser, je geringer der Chlorgehalt des Harns ist*).

Die zweckmässigste Anpassung der Volhard'schen Methode zur schnellen Bestimmung des Chlor im nicht veraschten Harne ist von Arnold und fast gleichzeitig von E. Salkowski ausgeführt. Den Vorschriften des Letzteren schliesst sich folgende Schilderung an**).

Das Volhard'sche Verfahren beruht auf der vollständigen Fällbarkeit des Chlor der Alkalimetallverbindungen und ebenso der Schwefelcyansäure in stark salpetersaurer Lösung. Eine mit Salpetersäure im Ueberschuss versetzte Flüssigkeit, welche Silbernitrat und Eisenoxydsalz enthält, giebt mit Schwefelcyanammonium erst dann eine Rothfärbung, wenn das Silber bereits vollständig ausgefällt ist.

Zur Ausführung dieser Bestimmung im Harne sind ausser 3 Büretten erforderlich: eine Pipette von 15 oder 30 CC., eine solche von 4 CC. und eine andere von 5 CC. Inhalt, ferner ein Kölbchen mit Marke im Halse für 100 CC., durch Glasstopfen verschliessbar, ein

---

*) Die Methode von Habel und Fernholz (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 23. S. 85.) kann genaue Werthe liefern, giebt aber die Vortheile einer volumetrischen Methode durch ihre Umständlichkeit und Mangel passender Endreaction auf. Das Verfahren von Latschenberger und Schumann (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 161) bietet keine Vortheile.

**) Arnold, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 81. E. Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1881. S. 177. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 285. u. E. Salkowski und Leube, Die Lehre vom Harne. Handbuch. Berlin, Hirschwald. 1882. S. 168. Vorausgegangen waren die Untersuchungen von F. A. Falk, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 8. S. 12.

anderes mit Marke für 80 CC. Inhalt und ein nicht mit Marke versehener Kolben von ungefähr 250 CC. Inhalt.

Von Lösungen sind erforderlich: 1) Reine Salpetersäure von 1,2 spec. Gewicht, 2) concentrirte Lösung von chlorfreiem Eisenammoniakalaun, der käuflich leicht rein zu beziehen ist, 3) eine Lösung von Steinsalz in Wasser, enthaltend 10 Grm. pulverisirtes und geglühtes, kaliumfreies Steinsalz in 1 Liter Lösung, 4) Silbernitratlösung von bekanntem Gehalt, und zwar zweckmässig entweder die in § 209 vorgeschriebene Lösung von 29,063 Grm. Silbernitrat in 1 Liter (oder eine Lösung entsprechend $^1/_{10}$ der Concentration von Mohr's Normallösung. Man erhält diese $^1/_{10}$ Normallösung durch Auflösen 16,997 Grm. reinen trocknen Silbernitrats in Wasser und Verdünnen zu 1 Liter), 5) eine titrirte Lösung von Schwefelcyanammoniumlösung.

Um diese letztgenannte Lösung anzufertigen, löst man 7 Grm. reines käufliches Schwefelcyanammonium in Wasser, verdünnt zu 1100 CC. und füllt mit der gut gemischten Lösung zunächst eine Bürette. Man lässt von obiger Silberlösung 10 CC. in einen Kolben fliessen, verdünnt auf 100 CC. giebt 4 CC. der obigen Salpetersäure und 5 CC. der Eisenammoniaklösung hinzu, schüttelt um und lässt dann die Schwefelcyanammoniumlösung in kleinen Portionen so lange zu dieser Mischung in einzelnen Portionen fliessen, bis die Rothfärbung der Flüssigkeit beim Umschütteln bleibend wird, aber noch schwach ist. Man wiederholt diese Titrirung und verdünnt dann 1 Liter der Schwefelcyanammoniumlösung bis 25 CC. von ihr äquivalent geworden sind 10 CC. der obigen Silberlösung, von welcher 1 CC. gerade 10 Milligrm. NaCl entspricht. Benutzt man statt dieser eine $^1/_{10}$ Normalsilberlösung, so kann man die Schwefelcyanammoniumlösung derselben äquivalent anfertigen, so dass 10 CC. der einen gerade hinreichen um aus 10 CC. der andern das ganze Silber und das ganze Schwefelcyan auszufällen.

Zur Ausführung der Chlortitrirung im Harne, welcher eiweissfrei sein muss, werden 10 CC. von demselben abgemessen in den Kolben mit der Marke für 100 CC., dann ungefähr 50 CC. Wasser, darauf 4 CC. obiger Salpetersäure und 15 CC. von der Silberlösung (oder 30 CC. der $^1/_{10}$ Normallösung) hinzugefügt, mehrmals nach Aufsetzen des Stopfens gut durchgeschüttelt, mit Wasser bis zur Marke gefüllt, abermals gut gemischt. Nachdem sich der Niederschlag von Chlorsilber abgesetzt hat, und dies geschieht schnell, wird die Mischung in den Kolben mit der Marke für 80 CC. filtrirt, bis das Filtrat gerade

80 CC. beträgt. Man schüttet dann das Filtrat in einen Kolben von 250 CC. Inhalt, spült mit ein paar Tropfen Wasser nach, fügt dann 5 CC. Eisenoxydammoniakalaunlösung hinzu und lässt nun aus der Bürette in kleinen Portionen so lange die titrirte Schwefelcyanammoniumlösung hinzufliessen, bis beim Umschütteln bleibende schwache Rothfärbung der Flüssigkeit erreicht ist und liest dann die Quantität der hierzu verbrauchten Schwefelcyanammoniumlösung ab. Es ist bei dieser Titrirung erfahrungsgemäss angenommen, dass 15 CC. der ersteren Silberlösung (oder 30 CC. der $^1/_{10}$ Normalsilberlösung) nicht allein hinreichen, um das ganze Chlor aus dem mit Salpetersäure stark angesäuerten Harn auszufällen, sondern noch überschüssiges Silbernitrat in Lösung lassen. Dieser Ueberschuss von Silber wird dann mit Schwefelcyanammoniumlösung volumetrisch bestimmt und dann der Chlorgehalt aus dem Deficit berechnet.

War zu 10 CC. Harn nach Salpetersäurezusatz und Mischung mit 50 CC. Wasser 15 CC. der Silberlösung, von welcher 1 CC. äquiv. 10 Milligrm. NaCl ist, hinzugefügt auf 100 CC. mit Wasser aufgefüllt, filtrirt und 80 CC. vom Filtrat abgemessen, in diesen 80 CC. nach Zusatz von Eisenoxydammoniakalaun und Titrirung mit Schwefelcyanammoniumlösung (25 CC. derselben äquiv. 10 CC. Silberlösung) die bleibende Rothfärbung der Mischung nach Zusatz von 6,4 CC. Schwefelcyanammoniumlösung eingetreten, so befanden sich in diesen 80 CC. noch $\frac{10 \cdot 6{,}4}{25} = 2{,}56$ CC. Silberlösung oder in 100 CC. der Mischung 3,2 CC derselben. Es sind sonach $15 - 3{,}2 = 11{,}8$ CC. der Silberlösung = 118 Milligrm. NaCl oder 71,5 Milligrm. Chlor in den 10 CC. Harn aufgefunden.

Waren dagegen zu 10 CC. Harn, auf gleiche Weise im Uebrigen behandelt, 30 CC. $^1/_{10}$ Normalsilberlösung zugesetzt und dann in 80 CC. Filtrat mit 7,9 CC. der Schwefelcyanammoniumlösung (1 CC. äquiv. 1 CC. $^1/_{10}$ Normalsilberlösung) die Endreaction (bleibende schwache Rothfärbung der Flüssigkeit) erreicht, so waren 9,87 Silberlösung in den 100 CC. Mischung von Chlor nicht gefällt, das Chlor in 10 CC. Harn hatte 20,13 CC. $^1/_{10}$ Normalsilberlösung gefällt, betrug also, da 1 CC. dieser Lösung äquival. 3,546 Milligrm. Chlor ist, 71,4 Milligrm. entsprechend 118 Milligrm. NaCl.

Ist der Harn sehr dunkel gefärbt, so ist es zweckmässig neben dem Eisenoxydammoniakalaun schliesslich bei der Titrirung einige

Tropfen einer concentrirten Lösung von übermangansaurem Kali zu zufügen, welche Entfärbung bewirken.

Ist endlich der Harn reich an Schleim oder enthält er Eiweiss oder Pepton, so ist die Chlortitrirung mit der Asche vorzunehmen nach § 209, und es kann dieselbe in der dort angegebenen einfacheren Weise vorgenommen werden entweder mit der dort beschriebenen Silberlösung oder mit $^{1}/_{10}$ Normalsilberlösung.

Zum Veraschen des Harns für diesen Zweck werden 10 CC. Harn in einer Platinschale abgedampft, der Rückstand ungefähr mit 1 Grm. chlorfreier Soda und 2—4 Grm. reinem Salpeter versetzt und von einer Seite her beginnend stärker bis zum Schmelzen und Entfernung der Kohle erhitzt, die Schmelze nach dem Erkalten in Wasser bei mässigem Erwärmen gelöst, mit Salpetersäure stark angesäuert in einen Kolben gebracht und mit einer Messerspitze Calciumcarbonat oder nach Salkowski mit einer Lösung von Natriumcarbonat neutralisirt und ohne zu filtriren nach Zusatz von wenigen Tropfen neutralen chromsauren Kalis mit der Silberlösung titrirt*).

Bestimmung der Phosphorsäure im Harne.

226. Der Phosphorsäuregehalt des Harnes kann ohne vorausgehende Veraschung mit hinreichender Genauigkeit durch Titriren mit essigsaurem Uranoxyd bestimmt werden. Zur Ausführung dieser Bestimmung misst man 50 CC. (von concentrirten Harnen genügt schon eine Quantität von 20 CC.) des Harns in ein Becherglas, fügt von der nach § 211 angefertigten Essigsäuremischung 5 CC. (oder wenn nur 20 CC. genommen waren, 2 CC.) hinzu, erhitzt diese Mischung auf dem Wasserbade und lässt nun in kleinen Portionen die titrirte Uranlösung so lange einfliessen, bis ein Tropfen der Flüssigkeit mit einem Tropfen Ferrocyankaliumlösung eine erkennbare bräunliche Färbung giebt. Die ganze Titrirung geschieht nach den Vorschriften, die in § 211 u. § 212 ausführlich beschrieben sind.

Eine noch grössere Genauigkeit enthält die Bestimmung nach den Angaben Neubauer's, wenn man durch Chlorammonium, Ammoniak

*) Diese Methode ist im Wesentlichen von Neubauer (Anleitung zur qual. u. quant. Anal. d. Harns, ältere bis 7. Aufl.), verbessert von Salkowski, indem derselbe den Sodazusatz einführte, um eine Verflüchtigung von Salzsäure beim starken Erhitzen zu vermeiden (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd 1. S. 16. Bd. 2. S. 397.; vergl. auch Feder u. Voit, Zeitschr. f. Biol. Bd. 16. S. 193).

und etwas schwefelsaure Magnesia erst die Phosphorsäure ausfällt, einige Stunden stehen lässt, filtrirt, die Phosphate auf dem Filter sammelt, trocknet, mit dem Filter verascht, in wenig Salzsäure löst und nun mit Essigsäuremischung versetzt und in obiger Weise titrirt. Diese Bestimmung ist jedoch kaum weniger umständlich als die Veraschung des Harns und nachherige Bestimmung der Phosphorsäure in der Asche.

Bestimmung des Gehaltes an Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium im Harne.

227. Wenn auch die Bestimmung der anorganischen Stoffe im Harne genauer nach vorausgehender Veraschung zu erweisen ist, kann man doch meist mit hinreichender Genauigkeit auch ohne Veraschen ausser Schwefelsäure, Chlor, Phosphorsäure, auch Calcium, Magnesium in einem abgemessenen Volumen Harn nach denselben Methoden, welche oben in den §§ 206 und 212 beschrieben sind, fällen und bestimmen. Ist der Harn eiweisshaltig, so ist in allen Fällen vorherige Veraschung oder wenigstens Ausfällung des Albumin erforderlich. Die letztere, ausgeführt durch Kochen von 100 CC. in einer Schale unter vorsichtigem Zusatz von einigen Tröpfchen Essigsäure (vergl. § 244), Filtriren und Auswaschen des Niederschlags mit Wasser, bis die Flüssigkeit wieder 100 CC. beträgt, ist bei der Bestimmung der Schwefelsäure wohl anwendbar, da aber das gefällte Albumin die Phosphate von Kalk und Magnesia in sich einschliesst, so ist in eiweisshaltigen Harnen das Veraschen für ihre Bestimmung nicht zu umgehen. Die verschiedenen zur Titrirung der Schwefelsäure, des Kalkes und der Magnesia vorgeschlagenen Methoden sind im Ganzen umständlicher und weniger genau, als die in §§ 206 bis 208 beschriebenen Methoden durch Wägung.

Die Bestimmung der Summe des Kalium und Natrium im Harne geschieht am Besten nach Veraschen durch Abdampfen von 20—100 CC. Harn (je nach der Concentration desselben) in einem nicht zu grossen Porcellanschälchen und vorsichtiges allmäliges Erhitzen des rückständigen Syrups unter Umrühren mit einem Platinspatel oder Draht, bis die empyreumatischen Stoffe verflüchtigt sind und die Kohle zu verbrennen beginnt. Man lässt erkalten, extrahirt die zerkleinerte Masse mit kochendem Wasser mehrmals, filtrirt durch aschefreies Filter, trocknet den Rückstand und verascht ihn mit dem Filter bei stets mässiger Erhitzung, extrahirt dann die Asche abermals

mit siedendem Wasser oder mit verdünnter Salzsäure und bestimmt die Alkalimetalle in der § 205 angegebenen Weise.

Eine Verwendung von salpetersauren Salzen und von Platingefässen für die Veraschung ist durchaus nicht zu rathen, da durch erstere leicht ein Verspritzen von Partikeln und in der letzteren Verflüchtigung von Alkalimetallen eintritt.

Salkowski*) hat zur schnellen Bestimmung des Kaliumgehaltes empfohlen, 100—200 CC. Harn auf etwa 15 CC. einzudampfen, nach dem Erkalten die harnsauren Salze abzufiltriren und die Flüssigkeit mit 5 CC. concentrirter Weinsäurelösung versetzt, an einem kühlen Orte stehen zu lassen. Nach 24 Stunden hat sich das saure weinsaure Kali abgesetzt, es wird durch Decantiren und Waschen auf dem Filter, zuerst mit schwachem Weingeist, dann mit Alkohol von 80 pCt. bis zum Verschwinden der Chlorreaction im Filtrate, leicht rein erhalten und kann dann bei 100° getrocknet und gewogen werden. Resultate annähernd. Genauer, aber viel umständlicher ist die Fällung durch Platinchlorid. Das saure weinsaure Salz könnte durch Abdampfen mit Schwefelsäure und Glühen in reines SO_4K_2 verwandelt und dies gewogen werden.

Nachweis von salpetersauren und salpetrigsauren Salzen im Harne.

228. Bence Jones**) fand, dass der Harn verschiedener Personen Anzeichen eines Gehaltes an Salpetersäure oder salpetriger Säure gab.

Schoenbein hat dann durch die folgende Methode erwiesen, dass der Harn, obwohl er stets reducirende Stoffe in reichlicher Quantität führt (Entfärbung von blauem Jodkleister), zugleich entweder salpetersaures oder salpetrigsaures Salz enthält. Er bediente sich zum Nachweis der salpetrigen Säure entweder eines dünnen Stärkekleisters, der mit etwas Jodkalium und sehr verdünnter Schwefelsäure versetzt war, oder einer mit Wasserstoffschwefel entfärbten Indigolösung, welche auf folgende Weise bereitet wurde. In Wasser durch Indigotinctur bis zur Undurchsichtigkeit tief gebläut und mit etwas Schwefelsäure versetzt tröpfelt man unter Umrühren die Lösung von Mehrfachschwefelkalium, bis das Gemisch vollständig entbläut erscheint. Dasselbe filtrirt, liefert eine vollkommen klare und farblose Flüssigkeit, welche jedoch bald anfängt sich zu trüben in Folge der eintretenden Zersetzung des Wasserstoffschwefels, und hat man bei der Darstellung dieser Versuchsflüssigkeit nicht mehr Schwefelleberlösung angewendet, als genau zur vollständigen Entbläuung der Indigotinctur nöthig war, so hält auch die Bläuung der Flüssigkeit mit ihrer Trübung, welche von ausgeschiedenem Schwefel herrührt, gleichen Schritt.

---

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 3. S. 351 und Bd. 4. S. 209.

**) Philos. Transact. 1851. S. 499.

Diese Versuchsflüssigkeit wird durch Ozon, die Superoxyde von Mangan, Blei u. s. w., die Uebermangan-, Chrom-, unterchlorige und salpetrige Säure und deren Salze ebenso durch Eisenoxyd und seine Lösungen in Säuren, endlich auch durch Chlor, Jod, Brom, wenn sie nicht im Ueberschuss angewendet werden, gebläut.

Der Harn zeigt nun keinen Gehalt an salpetriger Säure gegen diese Reagentien, so lange er klar ist, giebt sie aber, sowie er sich durch saure Gährung nach einigen Tagen trübt; später bei der alkalischen Gährung verliert er den Gehalt an salpetriger Säure. Schoenbein glaubte, dass der Harn salpetersaures Salz enthalte, welches bei dieser Gährung in salpetrigsaures umgewandelt werde.

Obwohl freie salpetrige Säure durch Harnstoff schnell zerstört wird, beeinträchtigt die Gegenwart von Harnstoff durchaus nicht die Bläuung eines angesäuerten Jodkaliumkleisters, wenn man einen Tropfen einer Lösung von salpetrigsaurem Kali hinzufügt.

Die Angaben von Schönbein sind in neuerer Zeit durch Untersuchungen von Röhmann*) bestätigt. Röhmann fand ausserdem, dass salpetrige Säure im faulen Harne nur auftritt, wenn der frische Harn Salpetersäure enthielt, dass nie salpetrige Säure im faulenden Harne durch Oxydation von Ammoniak entsteht. Er stellte fest, dass der Harn bei Hunger, Milch- oder Fleischnahrung Salpetersäure nicht enthält, Nitrat aber in den Harn übergeht, wenn es wie in Vegetabilien mit der Nahrung eingeführt wird. Für die Bestimmung der Salpetersäure im Harne hat Röhmann die Methode von Fr. Schultze**) benutzt und sehr brauchbar gefunden. Das Princip derselben gründet sich auf die quantitativ genaue Reduction der Salpetersäure zu Stickoxyd beim Kochen der sie enthaltenden Lösung mit Salzsäure und Eisenchlorür und für die Ausführung dieser Bestimmung ist von Schultze eine vortreffliche Anordnung einfacher Apparate construirt, welche für Salpetersäurebestimmungen allgemein gute Verwendung findet und in welcher das entwickelte Stickoxyd über Natronlauge aufgefangen volumetrisch bestimmt wird.

Aufsuchung von Wasserstoffsuperoxyd im Harne.

Nach Schoenbein's Untersuchungen sind die genauesten Reagentien für Wasserstoffsuperoxyd 1) die in Vorstehendem beschriebene durch Wasserstoffschwefel entfärbte Indigolösung in Verein mit Eisenvitriollösung und 2) verdünnte Indigotinctur gleichfalls zusammen wirkend mit Eisenvitriollösung. Schoenbein sagt nun, dass, wenn man in 200 Grm. frischen Harn so viel Indigolösung tröpfele, dass das Gemisch eine deutlich grüne Färbung zeige und nun dasselbe in zwei

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 94 u. S. 233.

**) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 8. S. 358. Tiemann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 6. S. 1038 u. 1041.

gleiche Hälften theile, zu einer derselben 15 bis 20 Tropfen verdünnte Eisenvitriollösung füge, diese letztere Harnportion bald heller grün oder bräunlich gelb erscheine, welche Farbenveränderung von theilweiser oder gänzlicher Zerstörung des Indigo herrühre, während die eisensalzfreie Hälfte ihre anfängliche grüne Farbe noch immer zeige. Lässt man ferner in 30 bis 40 Grm. frischen Harns 8 bis 12 Tropfen durch Wassersfoffschwefel genau entfärbte Indigotinctur fallen, so wird das Gemisch anfangs sich nicht bläuen, dies aber beim Zufügen einiger Tropfen Eisenvitriollösung sofort thun.

Der Gehalt des frischen Harns an Wasserstoffsuperoxyd zeigt Schwankungen, deren Ursachen nicht bekannt sind. Beim Stehen verliert sich der Gehalt an Wasserstoffsuperoxyd gänzlich, sobald die salpetrige Säure auftritt.

Volumetrische Bestimmung des Gesammtstickstoffs im Harne oder andern Flüssigkeiten des Organismus.

229. Da die früher angegebenen einfacheren Methoden*) zur Bestimmung der Gesammtquantität des in Ammonium- und organischen Verbindungen im Harne enthaltenen Stickstoffs sich als unzureichend erwiesen haben**) ist es allein zweckmässig, sich der für alle Fälle geeigneten volumetrischen Stickstoffbestimmung nach den Principien von Dumas zur Lösung dieser Aufgabe zu bedienen. Die folgenden Vorschriften für die Ausführung sind den Angaben von E. Ludwig***) entnommen, nur ist eine von Kossel†) eingeführte Anordnung der Apparate zum Auffangen des entwickelten Stickstoffs bevorzugt, weil sie sehr einfach, zuverlässig und leicht zu handhaben ist.

5 bis höchstens 10 CC. Harn werden entweder mit der Pipette genau abgemessen oder gewogen, in einem Schiffchen aus Kupfer oder Porcellan auf dem Wasserbade nach Zusatz weniger Tropfen verdünnter Schwefelsäure auf ein sehr kleines Volumen (2—3 Tropfen) verdunstet, dann etwas pulveriges Kupferoxyd damit gemischt mittelst eines Kupferstäbchens, das Schiffchen noch halb mit Kupferoxyd gefüllt und in die Verbrennungsröhre eingebracht, welche in folgender Weise vorbereitet wird.

Die an beiden Enden offene Verbrennungsröhre, weit genug, um das Schiffchen leicht einführen zu können (Fig. 12), wird in der

*) Vergl. z B. Seegen, Zeitschr. f. anal Chem. 1864. S. 155.

**) Schröder, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 70.

***) Wien. med. Jahrbücher 1880. 4.

†) Nicht publicirt. Aehnliche frühere, aber weniger einfache Apparate von E. Ludwig, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 13. S. 883. und R. Schmitt, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 24. S. 444.

Mitte mit einer ungefähr 15 Cm. langen, an beiden Seiten von Asbestpfröpfen begrenzten Schicht körnigen Kupferoxyd *d* gefüllt, an sie schliesst sich eine Spirale, 10—12 Cm. lang, von in Wasserstoff reducirtem Kupferdrahtnetz *e*, an diese eine durch Asbestpfröpfen begrenzte Schicht körnigen Kupferoxyds *f* von 5—6 Cm. Länge, an deren Stelle auch eine Spirale von oxydirtem Kupferdrahtnetz treten kann (wobei dann die begrenzenden Asbestpfröpfe wegfallen können). Hinter *d* wird darauf das den Harnrückstand und pulveriges Kupferoxyd enthaltende Schiffchen *c* in das Rohr eingeschoben, dann eine oberflächlich oxydirte Kupferspirale *b* von 5—6 Cm. Länge eingebracht. Alle zu verwendenden Kupferspiralen sollen engmaschig sein und so eingebracht werden, dass sie das Lumen des Rohrs gut erfüllen und sich etwas streng darin verschieben lassen. In genügender Entfernung von *b* wird das Verbrennungsrohr durch einen Kautschukpfropfen geschlossen, in dessen Bohrung der lang ausgezogene Hals eines hinten geschlossenen, bis auf einen Luftcanal mit kohlensaurem Mangan gefüllten Rohrs eingefügt ist. Die andere Oeffnung des Verbrennungsrohrs bei *g* ist gleichfalls mit Kautschukstopfen geschlossen und in seine Bohrung das Röhrchen *h* eingefügt, durch welches die bei der Verbrennung entwickelten Gase entweichen.

Fig. 12.



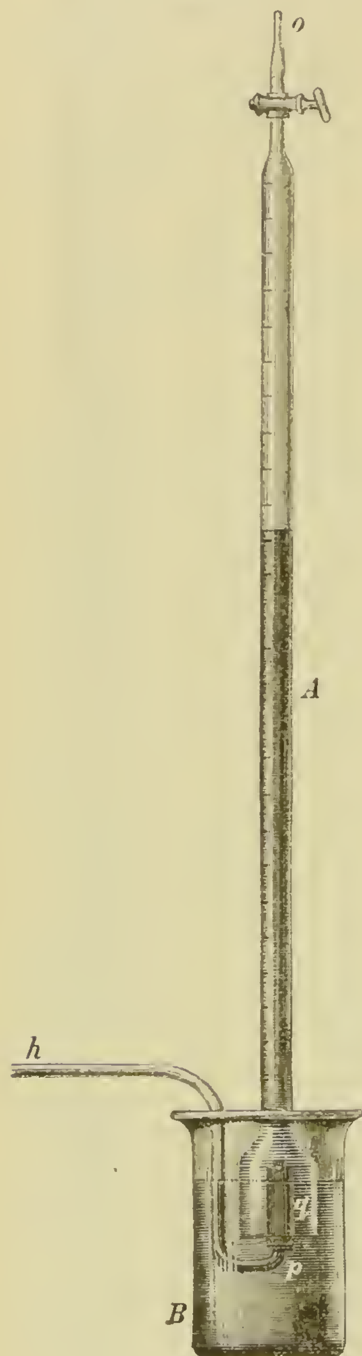
Zur Aufsammlung und Messung des bei der Verbrennung entwickelten Stickstoffs dient die in Fig. 13 (s. folg. Seite) dargestellte einfache Röhrencombination.

Das Röhrchen *h*, welches in den Kautschukstopfen *g* am Verbrennungsrohr mit seinem einen Ende eingefügt ist, hat drei rechtwinklige Biegungen und trägt am Ende *p* ein Bunsen'sches Kautschukventil (durch Glasstäbchen verschlossenes Stück Kautschukschlauch mit Längsschnitt) *q*. Dieser umgebogene Theil des Röhrchen *h* befindet sich in Aetzkalilauge von 1,27 spec. Gewicht im Glase *B* und über *p* und *q* ist das unten glockenförmig erweiterte, im Uebrigen cylindrische, graduirte und calibrirte Rohr *A* übergestülpt, welches durch Anfügen eines Kautschukschlauchs nebst kleiner leerer Waschflasche und Saugen an den oben mündenden Röhrchen der letzteren bei geöffnetem Hahn mit Kalilauge

leicht und vollständig gefüllt und durch Schliessung des Hahns gefüllt erhalten wird.

Vor Einleitung der Verbrennung wird zunächst durch Erhitzen von Mangancarbonat in *a* CO_2 entwickelt und die atmosphärische Luft aus dem Verbrennungsrohre vollständig ausgetrieben, so dass das am Bunsen'schen Ventil entweichende Gas in den $^1/_2$ Stunde nach Beginn der CO_2entwickelung vorgelegten Apparaten *A* und *B* vollständig absorbirt wird (nicht absorbirtes Gas wird durch Absaugen fortdauernd entfernt). Sobald dies erreicht ist, wird das mit Aetzkalilauge gefüllte Rohr *A* über das Ventil gebracht und bei sehr ermässigter Kohlensäureentwickelung erst die Abtheilung *e*, dann *f*, darauf *d* und *b* zur dunkeln Rothgluth gebracht, endlich das Schiffchen *c* erhitzt und langsam die Verbrennung in demselben unterhalten, bei welcher zuletzt, wenn eine Rückströmung von unverbrannten Destillationsproducten durch *b* nicht mehr zu fürchten ist, der CO_2-Strom ganz sistirt werden kann. Hört dann schliesslich beim Glühen der ganzen Verbrennungsröhre von *b* bis *f* die Gasentwickelung auf, so wird durch Erhitzen von *a* so lange noch CO_2 in mässigem Strome entwickelt, bis kein unabsorbirtes Gasbläschen mehr in *A* aufsteigt, und der Stand des Flüssigkeitsniveau in der Röhre *A* ganz constant bleibt. Man entfernt dann das Röhrchen *h* aus oder mit dem Kautschukstopfen *g*, versenkt das Becherglas *B* mit der darin stehenden Röhre *A* in ein hohes und weites, mit Wasser bis nahe zum Rande gefülltes Glasgefäss, lässt an einem Orte mit gleichmässiger Temperatur bei vollkommen senkrechter Stellung der Röhre *A* und möglichst geringer Erhebung des Flüssigkeitsniveau in *A* gegen aussen einige Stunden ruhig stehen und macht dann folgende Ablesungen: 1) Das Volumen des in *A* vorhandenen Stickstoffgases in Cubikcentimetern;

Fig. 13.



2) die Höhe des Flüssigkeitsniveau in *A* gegen aussen in Millimetern; 3) den Barometerstand in Millimetern; 4) die Temperatur der Flüssigkeit, in welche *A* versenkt ist und 5) die Temperatur der Luft über derselben. Die Temperatur beider soll die gleiche sein. Ist dann v das Volumen des Stickstoffgases in Cubikcentimeter, t die Temperatur, welche in 4 und 5 abgelesen wurde, b der Barometerstand, r die Spannung des Wasserdampfes bei der Temperatur t, so ergiebt sich das Gewicht des aus dem verbrannten Harnrückstande entwickelten Stickstoffs ausgedrückt in Milligrammen:

$$p = \frac{1{,}25658 \, . \, v \left(b - \left[r + \frac{h}{13{,}6}\right]\right)}{(1 + t \, . \, 0{,}003665) \; 760}$$

In dieser Formel ist 1,25658 das Gewicht von 1 CC. Stickstoff bei 0° und 760 Millimeter Barometerdruck, h die Höhe des Flüssigkeitsstandes im Rohre A über dem äusseren Niveau, 13,6 das spec. Gewicht des Quecksilbers bei 0°.

Nachweis und Bestimmung des Harnstoffs im Harne.

230. Zum Nachweis des Harnstoffs wird eine Portion Harn auf dem Wasserbade zum dünnen Syrup verdunstet, mit Alkohol versetzt, filtrirt, das Filtrat wieder auf dem Wasserbade verdunstet und der syrupöse Rückstand nach vollständigem Erkalten tropfenweise mit concentrirter reiner Salpetersäure versetzt, so lange die Bildung eines Niederschlags zu beobachten ist. Ein geringer Ueberschuss von Salpetersäure ist nöthig. Im Uebrigen gelten die § 97 angegebenen Vorschriften.

Zur Bestimmung des Harnstoffs im Harne ist in allen denjenigen Fällen, wo es sich nicht um die möglichste Genauigkeit handelt, die Titrirung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd jeder anderen Methode vorzuziehen, da sie leicht und schnell ausführbar und gewiss für alle Fragen der klinischen Medicin, auch fast für alle physiologischen Fragen hinreichend genaue Resultate ergiebt und keine der übrigen zur Bestimmung des Harnstoffs im Harne vorgeschlagene Methode völlig frei von Ungenauigkeit ist.

Man hat hauptsächlich die Spaltungen des Harnstoffs 1) mit Wasser zu Kohlensäure und Ammoniak, 2) in Stickstoff, Kohlensäure und Wasser durch Oxydation, von denen die erstere durch Gährung, Erhitzen mit Wasser oder mit Säure oder mit Alkalilauge, die zweite durch Einwirkung von salpetriger Säure oder von unterchlorigsaurem

Natron oder einer concentrirten Lösung von Brom in Natronlauge herbeigeführt wird, zur Bestimmung des Harnstoffs verwendet, indem man bei der ersteren Zersetzung entweder die CO_2 oder das NH_3 und bei der zweiten entweder wiederum die CO_2 oder das entwickelte Stickstoffgas bestimmte.

Die von Bunsen*) vorgeschlagene Methode der Zerlegung des Harnstoffs durch Erhitzen mit ammoniakalischer Chlorbariumlösung über 200° und Bestimmung des gebildeten kohlensauren Baryt gilt für die genaueste Bestimmungsmethode, ist aber insofern nicht fehlerfrei, als ausser den substituirten Harnstoffen auch die als Guanidine anzusehenden Körper z. B. Kreatinin bei dieser Behandlung CO_2 und NH_3 liefern. Derselbe Vorwurf trifft auch die sämmtlichen übrigen Bestimmungsmethoden, diese sind aber aus anderen Gründen noch weniger genau. Die von Heintz**) und Ragsky empfohlene Methode der Zerlegung durch Erhitzen mit Schwefelsäure und Bestimmung des gebildeten NH_3 giebt recht gute Resultate, sie wird unten in § 236 beschrieben. Einige Versuche der Zerlegung des Harnstoffs durch Gährung und alkalimetrische Bestimmung des Ammoniak versprechen nicht ungünstige Resultate.

Die sämmtlichen Methoden hingegen, welche sich der Zerlegung des Harnstoffs durch salpetrige Säure oder durch unterchlorigsaures oder unterbromigsaures Alkali bedienen, geben weniger sichere Werthe als eine sorgfältige Titrirung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd und sind höchstens dann vorzuziehen, wenn die Harnstoffbestimmung in sehr geringen Flüssigkeitsmengen auszuführen ist.

Die zuerst von Millon***) erfundene Methode der Behandlung des Harns mit einer Lösung von Quecksilber in starker Salpetersäure, die nach des Verf. Erfahrung fast immer zu niedrige Werthe ergiebt, wenn man aus der entwickelten CO_2quantität den Harnstoff berechnet, hat manche Modificationen erhalten. Gréhant†) bringt den zu untersuchenden Harn in das Vacuum der Quecksilberluftpumpe, lässt starke Millon'sche Quecksilberlösung hinzufliessen, erwärmt und misst die Quantität der entwickelten CO_2 und des Stickstoffs. Boymond††) lässt in einem Geissler'schen Kohlensäurebestimmungsapparate die

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 65. S. 375.

**) Ebendas. Bd. 57. S. 29. Pogg. Ann. Bd. 66. S. 114.

***) Compt. rend. T. 26. p. 119.

†) Journ. de l'anat. et de la physiol. Mai—Juin 1870. p. 318.

††) M. Boymond, De l'urée. Paris 1872.

Millon'sche Lösung zum Harne treten, bestimmt den durch Entweichen der CO_2 und des Stickstoffs bewirkten Gewichtsverlust und rechnet ebenso wie Gréhant bei dieser Zerlegung des Harnstoffs auf Entweichen von CO_2 und N_2 im Verhältniss ihrer Molecule, was nachweisbar unrichtig ist, da salpetersaures Ammoniak mit salpetriger Säure beim Erwärmen gleichfalls Stickstoff entwickelt. Endlich haben Davy*) und Leconte**) Methoden angegeben zur Bestimmung des Harnstoffs im Harne durch Zersetzung mit unterchlorigsaurem Natron und Messung der entwickelten Stickstoffmengen, und Knop***) und Huefner†) haben den Harnstoff mit concentrirter Lösung von Brom in Natronlauge zerlegt und den entwickelten Stickstoff gemessen.

Es würde zu weit führen, alle diese Vorschläge und Methoden zu besprechen, und wird genügen, die Methoden von Bunsen, von Heintz und von Huefner etwas näher anzugeben, die wichtigste von allen aber, die Liebig'sche Titrirmethode, ausführlich zu beschreiben.

Titrirung des Harnstoffs mit salpetersaurem Quecksilberoxyd nach Liebig.

Princip der Methode und Anfertigung der Titrirflüssigkeit.

231. Fügt man zu einer verdünnten Harnstofflösung eine Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd, so entsteht, wenn kein Kochsalz zugegen ist, sofort ein weisser Niederschlag, welcher Harnstoff, Salpetersäure und Quecksilberoxyd enthält, fügt man die Quecksilberoxydlösung dann in ziemlich continuirlichem Strome, so lange als sich noch Niederschlag bildet, und selbst einen geringen Ueberschuss davon hinzu, so hat der Niederschlag constant die Zusammensetzung $2(CH_4N_2O), N_2O_5 + 4HgO$. Enthält die Harnstofflösung Chlornatrium, so bildet sich zunächst beim Hinzufügen von Quecksilberoxydlösung Quecksilberchlorid und salpetersaures Natron, und da das Quecksilberchlorid den Harnstoff nicht fällt, entsteht in einer Lösung, die ausser Harnstoff auch Chlornatrium enthält, beim allmäligen Zufügen von salpetersaurem Quecksilberoxyd erst dann ein Niederschlag, wenn alles Chlor bereits an Quecksilber gebunden ist. Auf dieses Verhalten hat Liebig die Titrirung des Chlornatrium im Harne ge-

*) Philos. Magaz. Vol. 7. p. 385.
**) Compt. rend. T. 47. p. 237.
***) Zeitschr. f. anal. Chem. IX. S. 225.
†) Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 3. S. 1.

gründet, indem er den entstehenden Niederschlag als Endreaction der Titrirung benutzte. Für die Titrirung des Harnstoffs bedingt aber die fast constante Gegenwart von Chlornatrium im Harne eine Ungenauigkeit, die entweder durch eine Schätzung corrigirt, oder durch eine der Titrirung vorausgehende Ausfällung des Chlors durch Silberlösung vermieden wird. Da auch phosphorsaure Salze einen Niederschlag mit Quecksilberoxydsalzen geben, so ist der Harn von der Phosphorsäure vor der Harnstofftitrirung zu befreien. Eine Harnstofflösung, welcher salpetersaures Quecksilberoxyd in einer zur Ausfällung des gesammten Harnstoffs nicht zureichenden Menge zugesetzt ist, giebt mit kohlensaurem Natron im Ueberschuss versetzt einen weissen Niederschlag, ist dagegen der Harnstoff bereits ausgefällt durch die Quecksilberlösung und ein geringer Ueberschuss der letzteren zugesetzt, so giebt kohlensaures Natron mit der Mischung einen gelben Niederschlag. Dieses letztere Verhalten dient als Endreaction bei der Titrirung des Harnstoffs.

Zur Ausführung der Titrirung sind ausser einer Lösung von kohlensaurem Natron oder besser mit Wasser angerührtem Brei von doppelt kohlensaurem Natron*) folgende Flüssigkeiten anzufertigen:

1) Barytmischung. Man mischt 2 Vol. kalt gesättigtes Barytwasser mit 1 Vol. gleichfalls kalt gesättigter Lösung von salpetersaurem Baryt und bewahrt die Mischung in gut verschlossener Flasche auf.

2) Harnstofflösung. Man löst 6 Grm. bei 100° längere Zeit getrockneten reinen Harnstoff in etwas Wasser und verdünnt die Lösung zu 300 CC.

3) Natriumcarbonatlösung. 53 Grm. reines geglühtes Natriumcarbonat werden in Wasser gelöst und zu 1 Liter Lösung mit Wasser verdünnt.

4) Titrirte Quecksilberlösung. Zu ihrer Anfertigung verdünnt man concentrirte käufliche Lösung von reinem salpetersauren Quecksilberoxyd (welche mit NaCl-Lösung keine Trübung geben darf) mit Wasser bis das spec. Gewicht der Mischung ungefähr 1,10 beträgt, füllt mit der Mischung eine Bürette und prüft ihren Gehalt zunächst in folgender Weise.

Mittelst einer Bürette oder Pipette werden 10 CC. der obigen Harnstofflösung in ein Becherglas abgemessen, aus einer andern Bürette von obiger Sodalösung ein Paar Cubikcentimeter in ein Uhrglas ab-

---

*) Rautenberg, Ann. Chem. Pharm. 1865. Bd. 133. S. 55.

gemessen, dasselbe auf eine schwarze Unterlage gestellt, dann in einzelnen Portionen so lange Quecksilberlösung in die Harnstofflösung einfliessen gelassen, bis eine Probe der gut umgerührten Mischung mit dem Glasstabe in die Sodalösung gebracht und vom Rande des Uhrglas in dieselbe einfliessend in wenigen Secunden eine gelbe Färbung deutlich erkennen lässt. Man giesst dann die Sodalösung mit den einzelnen Proben aus dem Uhrglase zur Harnstoffquecksilbermischung, fügt Natriumcarbonat aus der Bürette noch so lange hinzu, bis die Reaction der Mischung fast neutral, nur ganz schwach sauer reagirt und prüft abermals einen Tropfen der Mischung mit einigen Tropfen Sodalösung, ob die gelbe Endreaction eintritt. Ist dies nicht der Fall, so fügt man noch so lange kleine Portionen Quecksilberlösung hinzu, bis eine der Mischung entnommene Probe mit Sodalösung die gelbe Endreaction giebt, neutralisirt nahezu mit gemessener Portion Sodalösung und prüft abermals. Hat man auf diese Weise annähernd ermittelt, 1) wie viel Quecksilberlösung zur Harnstofflösung zuzufügen sind, um die gelbe Endreaction zu erhalten und 2) wie viel Cubikcentimeter Sodalösung zur annähernden Neutralisirung erfordert werden, so wiederholt man die ganze Titrirung, indem man zu 10 CC. der Harnstofflösung gleich auf einmal so viel Quecksilberlösung und unter fortdauerndem Umrühren so viel Sodalösung zufliessen lässt, als die erste Titrirung als erforderlich erwiesen hat. Bringt man dann eine Probe der Mischung auf einem Uhrglase mit einigen Tropfen Sodalösung oder einem Brei von Natriumbicarbonat zusammen, so wird die gelbe Endreaction nicht eintreten, ohne dass eine oder mehrere kleine Portionen Quecksilberlösung noch hinzugefügt sind, zugleich gemessene kleine Portionen von Sodalösung die Säure genügend neutralisirt haben. Wiederholt man diese Titrirung abermals in derselben Weise, indem man nämlich sofort die ganze durch die zweite Titrirung nothwendig befundene Quantität Quecksilberlösung zur Harnstofflösung hinzufügt, darauf sogleich die gleichfalls corrigirte Natriumcarbonatmenge unter stetem Umrühren einfliessen lässt, so wird jetzt entweder sofort die Endreaction bei Einbringung einer Probe der Mischung in ein Paar Tropfen Sodalösung eintreten, oder nur ganz wenig Quecksilberlösung und Natriumcarbonat hinzuzumischen sein, um sie hervorzurufen*).

---

*) Die hier gegebene Anleitung für die Titrirung der Quecksilberlösung sowie die Vorschriften in den folgenden Paragraphen für die Titrirung des Harnstoffs im

Die Quecksilberlösung soll nun so weit verdünnt werden, dass 20 CC. derselben erforderlich sind, um in 10 CC. jener Harnstofflösung gerade die erste deutliche Gelbfärbung hervorzurufen. Hat man nun z. B. 16 CC. der Quecksilberlösung für 10 CC. der Harnstofflösung verbraucht, um die gelbe Endreaction zu erhalten, so würden zu je 16 CC. derselben 4 CC. Wasser hinzuzufügen sein, um eine Lösung von gewünschtem Titer zu erhalten, aber es ist zweckmässig, nicht gleich die ganze nach dieser Berechnung erforderliche Quantität Wasser zuzusetzen und die etwas zu concentrirte Lösung nochmals in obiger Weise mit 10 CC. Harnstofflösung zu prüfen, auch jetzt

---

Harne suchen den grossen Theils berechtigten Einwendungen Pflüger's (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd 21. S. 248) gegen die von mir in den früheren Auflagen dieses Handbuches gegebenen Anweisungen gerecht zu werden. Pflüger macht mit Recht darauf aufmerksam, dass bei dieser Titrirung nur dann genaue Resultate erhalten werden, wenn 1) der Zusatz der Quecksilberlösung möglichst continuirlich bis zur erforderlichen Quantität geschieht und 2) die Mischung auch sofort möglichst neutralisirt wird. Es sind sonach mehrere Titrirungen auszuführen, um diese Werthe annähernd erst zu ermitteln. Kurze Andeutungen für beide Erfordernisse sind bereits von Liebig selbst gegeben, auch von mir erwähnt, aber ihre exactere Durchführung durch die Methoden Pflüger's ist zur Erlangung genauer Resultate von Werth. Es ist aber wohl zu beachten, dass eine genaue Neutralisirung mit Natriumcarbonat überhaupt 1) wegen unvermeidlicher Bildung von Bicarbonat nicht wohl ausführbar und 2) unthunlich ist, weil alle Quecksilberoxydsalze sauer reagiren, der zur Hervorrufung der gelben Endreaction erforderliche geringe Ueberschuss von Quecksilberoxydsalz in einer wirklich neutral reagirenden Flüssigkeit nicht vorhanden sein kann. Neutral reagirende Lösungen können neutrales Quecksilberoxydsalz ebensowenig enthalten als neutrales Kupfer-, Eisenoxydsalz u. s. w. (denselben Fehler enthält bereits eine ältere Vorschrift von Meissner für Ausfällung des Harnstoff aus wässrigem Blutextract). Demnach sind die Vorschriften von Pflüger gut, wenn man sich einerseits der Neutralität möglichst nähert und den Zusatz der erforderlichen Portion Quecksilberlösung möglichst beschleunigt, das letztere deshalb, weil, wie Liebig bereits nachgewiesen hat, bei Zusatz von Quecksilbernitratlösung zu überschüssiger Harnstofflösung zunächst Verbindungen von 1 Mol Harnstoff mit 2 oder 3 nicht mit 4 Aequivalenten Quecksilber entstehen, die dann natürlich nur unvollkommen durch weiteren Zusatz von Quecksilberlösung in die geforderte Verbindung mit 4 Aequivalenten Quecksilber übergeführt werden. Kennt man nun durch die vorläufigen Titrirungen ungefähr die für die zu fällende Harnstoffmenge erforderliche Quantität Quecksilberlösung, so kann durch sofortigen Zusatz dieser ganzen Quantität gleich die Verbindung des Harnstoffs mit 4 Aequivalenten Quecksilber gebildet werden und annähernd wird dies bei allen früheren genaueren Harnstoffbestimmungen und Feststellungen des Titres der Quecksilberlösung bei mehrmalig wiederholter Titrirung bereits geschehen sein.

etwas weniger Wasser als die Berechnung erfordert hinzuzufügen, abermals mit 10 CC. Harnstofflösung zu prüfen u. s. w., bis man zur richtigen Verdünnung der Quecksilberlösung gekommen ist, so dass gerade 20 CC. derselben den Harnstoff in 10 CC. der Harnstofflösung fällen und die erste deutliche Gelbfärbung in der Sodalösung erscheinen lassen. Nähert man sich nicht sehr vorsichtig dem richtigen Verdünnungsgrade der Quecksilberlösung, so erhält man gewöhnlich gleich eine zu verdünnte Lösung.

Da nun 10 CC. der Harnstofflösung 0,2 Grm. Harnstoff enthalten, so entspricht also 1 CC. von der Quecksilberlösung, wenn 20 CC. derselben zur Hervorrufung der Endreaction erforderlich sind, 10 Milligr. Harnstoff.

Zur Darstellung dieser Titrirflüssigkeit empfiehlt Dragendorff*) 96,855 Grm. reines Quecksilberchlorid mit überschüssiger verdünnter Kali- oder Natronlauge zu fällen, den zuerst durch Decantiren, dann auf dem Filter völlig ausgewaschenen Niederschlag in der nöthigen Quantität verdünnter Salpetersäure zu lösen und etwa auf ein Liter zu verdünnen. Man titrirt diese Flüssigkeit, die grosse Haltbarkeit haben soll, mit einer 2procentigen Harnstofflösung und verfährt im Uebrigen wie es oben angegeben ist.

Pflüger**) empfiehlt die Auflösung von reinem Quecksilber in Salpetersäure, Verdünnung auf bestimmtes spec. Gewicht und Titrirung mit Harnstofflösung oder Abwägung des reinen Quecksilbers in besondere Messröhrchen, welche 71,5 Grm. Quecksilber bei 15°, gerade die richtige Quantität für 1 Liter Lösung fassen. Salkowski***) zieht die Abwägung von 77,2 Grm. reinen trocknen Quecksilberoxyds, Lösung in Salpetersäure, Abdampfen und Verdünnen zu 1 Liter vor.

Ausführung der Titrirung des Harnstoffs im Harne ohne Ausfällung des Chlors.

232. Hat man sich bereits überzeugt, dass der Harn kein Eiweiss enthält, so füllt man ein Probirgläschen zwei Mal mit dem Harne, giesst in ein Becherglas aus, füllt dasselbe Probirgläschen dann noch einmal mit der im vorigen Paragraphen beschriebenen

*) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 2. S. 86.

**) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 21. S. 248.

***) Salkowski u. Leube, Die Lehre vom Harne. 1882. S. 39.

Barytmischung, giesst dieselbe zu dem abgemessenen Harnvolumen, schüttelt um, filtrirt und prüft durch Zusatz eines Tropfens Barytmischung zu dem Filtrate, ob dasselbe völlig frei von Phosphorsäure ist, also keinen Niederschlag mit der Barytmischung giebt. Entsteht noch ein Niederschlag, so mischt man am Besten eine neue Portion des Harns mit dem gleichen Volumen Barytmischung, filtrirt und prüft das Filtrat mit einem Tropfen der Barytmischung. Phosphorsäurereiche Harne, z. B. Hundeharn, müssen oft mit dem doppelten Volumen Barytmischung versetzt werden, um völlig von Phosphorsäure befreit zu werden.

Ist das Filtrat frei von Phosphorsäure, so misst man davon eine Quantität ab, welche 10 CC. Harn enthält. Waren also 2 Volumen Harn mit 1 Volumen Barytmischung versetzt, so misst man vom Filtrat 15 CC. ab; war der Harn mit dem gleichen Volumen Barytmischung versetzt, so benutzt man 20 CC. des Filtrats zur Titrirung u. s. w.

Ist der zu titrirende Harn eiweisshaltig, so erfordert er folgende Vorbereitung: In einer hinreichend geräumigen Schale erhitzt man 100 CC. des Harns zum Kochen und fügt vorsichtig sehr verdünnte Essigsäure tropfenweise hinzu, bis eine gute flockige Ausfällung des Eiweisses und Klarheit der Flüssigkeit über dem Niederschlage erreicht ist. Man erkennt, wenn man die Flamme wegrückt, leicht, ob die Gerinnung des Eiweisses eine vollkommene ist. Man filtrirt nun in einen Messcylinder, lässt völlig ablaufen vom Filter und wäscht Schale und Filter mit kleinen Portionen Wasser so lange nach, bis das Filtrat gerade 100 CC. beträgt, und verfährt mit der so erhaltenen Flüssigkeit, wie es oben für eiweissfreie Harne angegeben ist, indem man wohl darauf achtet, dass durch die Barytmischung die Reaction des Gemisches alkalisch wird, ist dies nicht der Fall, so fehlt es an Barytmischung.

Die eiweiss- und phosphorsäurefreie Mischung von Harn und Barytlösung titrirt man nun mit der salpetersauren Quecksilberlösung in derselben Weise, wie es bezüglich der Anfertigung der Quecksilberlösung im vorigen Paragraphen beschrieben ist. Man lässt zu der abgemessenen Portion des mit Barytmischung verdünnten Harns die titrirte salpetersaure Quecksilberoxydlösung cubikcentimeterweise zufliessen, so lange man eine weitere Vermehrung des Niederschlags beobachtet (es ist sehr selten der Fall, dass man weniger als 4 bis 5 CC. Quecksilberlösung für 10 CC. Harn verbraucht, um die gelbe Endreaction mit Soda zu erhalten, man kann daher diese Quantität

sofort zusetzen ohne weitere Prüfung, wenn der Harn nicht augenscheinlich sehr verdünnt ist). Kann man eine weitere Vermehrung des Niederschlags nicht mehr unterscheiden, so bringt man einige abgemessene Tropfen der Normalsodalösung in ein Uhrglas, setzt dies auf schwarze Unterlage und prüft einen Tropfen, den man aus dem mit Quecksilberlösung versetzten Harn mit dem Glasstabe herausnimmt und in die Sodalösung einfliessen lässt, ob er darin einen weissen oder gelben Niederschlag erzeugt, wartet einige Secunden, da die gelbe Farbe nicht sofort erscheint, fügt dann von Neuem $^1/_2$ bis 1 CC. Quecksilberlösung zu der Harnbarytmischung, rührt mit dem Glasstabe um und prüft einen Tropfen in der Sodalösung u. s. w. Kann man in der Sodalösung die weiteren Proben nicht mehr deutlich von den früheren unterscheiden, so schüttet man die Sodalösung mit den eingebrachten Proben in die zu titrirende Harnbarytmischung zurück, giesst 1—2 CC. Sodalösung von Neuem in das Uhrglas und prüft nach weiterem Zusatz von Quecksilberlösung in der angegebenen Weise. Nimmt endlich der in die Sodalösung einfliessende Tropfen der Mischung nach einigen Secunden eine gelbliche Färbung an, so stumpft man mit gemessener Quantität Sodalösung die freie Säure in der untersuchten Flüssigkeit so weit ab, dass die Reaction sehr schwach sauer bleibt und prüft nun abermals einen Tropfen davon in einigen Tropfen Sodalösung; tritt jetzt keine Gelbfärbung ein, so ist noch ein geringer weiterer Zusatz der Quecksilberlösung erforderlich, um diese Gelbfärbung der Probe erscheinen zu lassen. Hat man dies erreicht, so liest man die Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung, ausserdem die im Ganzen zur Neutralisation angewendete Quantität Normalsodalösung ab und wiederholt nun die ganze Titrirung, indem man nun zu 15 CC. Harnbarytmischung gleich auf ein Mal so viel Quecksilberlösung und unter gutem Umrühren auch so viel Sodalösung zufliessen lässt, als nach der ersten vorläufigen Titrirung sich als nöthig erwiesen hat. Prüft man dann einen Tropfen der Mischung in Sodalösung, so wird die gelbe Endreaction nicht eintreten, es werden 1 oder mehre kleine gemessene Portionen von Quecksilberlösung und entsprechend Sodalösung zur Mischung hinzugefügt werden müssen, um die Endreaction herbeizuführen. Die jetzt gefundenen Correctionen der Quecksilberlösung und Sodalösung können nun durch eine dritte Titrirung geprüft werden, ob nach ihrer sofort vollständigen Zumischung zu der abgemessenen Menge Harnbarytmischung ein Tropfen der Mischung gleich die Endreaction giebt. Ist

dies nicht der Fall, so wird eine Correction durch weiteren Zusatz von Quecksilberlösung und Sodalösung erfolgen müssen. Je häufiger diese Titrirung wiederholt wird und je schneller die Zumischung der ganzen Quecksilbernitratmenge und der erforderlichen Sodalösung zur Harnstofflösung geschieht, um so genauer wird das Resultat der Titrirung (vergl. die Vorschriften von Pflüger oben S. 365).

233. Eine Complication für die Titrirung tritt dadurch ein, dass die Endreaction zu früh eintritt, wenn die Flüssigkeit, welche untersucht wird, mehr als 2 pCt. Harnstoff enthält, dass sie dagegen zu lange ausbleibt, wenn diese Flüssigkeit weniger als 2 pCt. Harnstoff enthält. Ist sie zu concentrirt, so kann man sie durch Wasserzusatz zu einer 2 pCt. Harnstoff enthaltenden während des Titrirens umwandeln, enthält sie aber weniger, so kann nur in der Berechnung nach empirisch gewonnenem Resultate eine Correction versucht werden.

Enthält die Flüssigkeit mehr als 2 pCt. Harnstoff, so wird man von der Quecksilberlösung doppelt so viel Cubikcentimeter verbrauchen, als das Volumen der Harnbarytmischung beträgt, ohne dass die Endreaction eintritt. Ist man bei der Titrirung so weit gekommen, so fügt man von da ab auf je 2 CC. Quecksilberlösung, die man mehr verbraucht als das Doppelte der zur Titrirung abgemessenen Harnbarytmischung, 1 CC. destillirtes Wasser zu und erhält so schliesslich immer eine 2 pCt. Harnstoff enthaltende Lösung mit der doppelten Quantität Quecksilberlösung gemischt. Waren z. B. 15 CC. Harnbarytmischung, enthaltend 10 CC. Harn, zur Titrirung abgemessen und nach Zusatz von 30 CC. Quecksilberlösung noch keine Endreaction eingetreten, so fügt man 1 CC. Wasser hinzu und fährt in dieser Weise mit dem Wasserzusatz fort, wie es oben angegeben ist. Tritt nun z. B. nach Zusatz von 42 CC. Quecksilberlösung die Endreaction ein, so sind allmälig auf die 12 CC. Quecksilberlösung, welche mehr als 30 verbraucht wurden, 6 CC. Wasser hinzugefügt und diese addirt zu 15 CC. geben 21 CC., also die Hälfte der zur Titrirung verbrauchten Quecksilberoxydlösung. Das Volumen der zur Neutralisation verwendeten Natriumcarbonatlösung ist bei dieser Berechnung an Stelle von zuzusetzenden Wasser in Rechnung zu setzen.

Tritt die Endreaction schon ein, ehe doppelt so viel Cubikcentimeter Quecksilberlösung verbraucht sind, so wird der durch zu späten Eintritt der Endreaction entstehende Fehler nach Liebig möglichst corrigirt, wenn man auf je 5 CC. Quecksilberlösung, welche man weniger verbraucht hat zur Hervorrufung der gelben Endreaction als

das Doppelte des zur Titrirung abgemessenen Harnbarytmischungsvolumen, je $^{1}/_{10}$ CC. von der Anzahl Cubikcentimeter der verbrauchten Quecksilberlösung abzieht, ehe man die weitere Berechnung macht. Waren z. B. 15 CC. Harnbarytmischung zur Titrirung abgemessen und die Endreaction schon nach Verbrauch von 10 CC. Quecksilberlösung eingetreten, so sind auf die 4 Mal 5 CC., welche weniger als 30 CC. verbraucht sind, 0,4 CC. von jenen 10 CC. abzuziehen, ehe die weitere Berechnung zu machen ist. Wenn die Quecksilberlösung bei diesem Gehalte an Harnstoff eben so richtig anzeigte, als in einer 2procentigen Harnstofflösung, so wäre die gelbe Endreaction schon nach Zusatz von 10 — 0,4 CC. oder 9,6 CC. erfolgt.

Eine genauere Correction als diese von Liebig ist von Pflüger gefunden und gleich für die Berechnung eines richtigen Werthes der titrirten Quecksilberlösung verwendet. Nach seiner Vorschrift zieht man die Anzahl der bis zur Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung ab von der Summe der zur Titrirung verwendeten Harnstofflösung oder Harnbarytmischung verwendeten Flüssigkeitsvolumen und der Volumen der Normalsodalösung, welche zur Neutralisation erforderlich waren, findet durch Multiplication dieser Differenz mit 0,08 die Anzahl Cubikcentimeter, welche von der verbrauchten Quecksilberlösung in Abzug zu bringen sind, ehe aus ihrem Volumen der Harnstoffgehalt der Flüssigkeit berechnet wird. Sind z. B. 16 CC. Quecksilberlösung verbraucht bis zur Endreaction für 15 CC. Harnbarytmischung unter Anwendung von 11,5 CC. Normalsodalösung, so ist nach Pflüger $([15 + 11,5] - 16) . 0,08 = 0,84$ CC. von der verbrauchten Quecksilberlösung 16 CC. in Abzug zu bringen, um den Einfluss der Verdünnung zu corrigiren und dann die Berechnung des Harnstoffgehaltes aus dem corrigirten Volumen der Quecksilberlösung = 15,16 CC. zu berechnen.

Eine weitere Correction erfordert das erlangte Resultat der Titrirung wegen des Gehaltes des Harns an Kochsalz. Nach Liebig's Erfahrungen wird der Fehler, welchen die Bildung von Quecksilberchlorid (vergl. vorigen Paragraphen) veranlasst, mit hinreichender Genauigkeit corrigirt, wenn man für 10 CC. Harn, welche der Titrirung unterworfen wurden, 1,5—2,5 CC. von der verbrauchten Anzahl Cubikcentimeter Quecksilberlösung abzieht, als den durchschnittlichen Verbrauch dieser Flüssigkeit durch das Chlornatrium zur Quecksilberchloridbildung.

Hat man nun eine Quantität Harnbarytmischung, welche 10 CC.

Harn entspricht, titrirt und die beiden angegebenen Correctionen ausgeführt, so giebt der Rest der verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung multiplicirt mit 10 in Milligrammen den Gehalt dieser Quantität Harn an Harnstoff, oder der Rest der verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung dividirt durch 10, giebt in Grammen den Procentgehalt des Harns an Harnstoff. Wenn z. B. 15 CC. Harnbarytmischung enthaltend 10 CC. Harn titrirt und 12,4 CC. Quecksilberlösung verbraucht wurden, ehe die gelbe Endreaction eintrat, so sind 0,4 CC. davon abzuziehen wegen geringeren Harnstoffgehaltes und etwa 1,5 CC. wegen des Kochsalzes. Es bleiben also 10,5 CC. übrig und der Harn enthält also in 100 CC. 1,05 Grm. Harnstoff.

Eine einmal begonnene Bestimmung des Harnstoffs im Harne durch diese Titrirung ist ohne Unterbrechung zu Ende zu führen, da sonst andere Verbindungen von salpetersaurem Harnstoff und Quecksilberoxyd entstehen, welche bewirken, dass die Endreaction zu früh erscheint.

Es ist ferner darauf zu achten, dass zersetzte Harne bei der Titrirung ein zu hohes Resultat ergeben wegen des Verbrauchs von Quecksilberlösung durch das Ammoniak, welches aus Harnstoff gebildet ist.

Man hat endlich sorgfältig darauf zu achten, dass die messingenen Quetschhähne an den Büretten nicht mit der Quecksilberlösung benetzt werden, da sie sich schnell amalgamiren und durchbrechen.

Ist der zu titrirende Harn jodhaltig, so entsteht bei der Titrirung des Harnstoffs zunächst ein gelber quecksilberjodidhaltiger Niederschlag und die Endreaction erscheint zu früh Alle jodidhaltigen Harne sind daher nach der im folgenden Paragraphen zu beschreibenden Methode auf Harnstoffgehalt zu titriren*).

Enthält der Harn Sarkosin, Methylhydantoin, Salicylsäure, Benzoësäure, Hippursäure, Ammoniak in wesentlichen Quantitäten, so ist er für die Liebig-sche Harnstofftitrirung nicht geeignet, weil ausser Harnstoff noch andere Stoffe gefällt werden; Benzoësäure und Hippursäure können jedoch durch salpetersaures Eisenoxyd ausgefällt und entfernt werden.

Harnstoffbestimmung durch Titrirung nach Ausfällung des Chlors.

234. Die Ungenauigkeit, welche der Chlorgehalt des Harns für die Harnstofftitrirung herbeiführt, kann ohne wesentliche Umstände dadurch vermieden werden, dass man den Chlorgehalt titrirt. Man verfährt dazu zweckmässig in folgender Weise:

10 CC. des zu untersuchenden Harns werden abgemessen, etwas chromsaures Kali hinzugefügt und nach den § 225 gegebenen Vorschriften der Chlorgehalt bestimmt. Dann mischt man 2 Volumina Harn und 1 Volumen Barytmischung, filtrirt, prüft, ob alle Phosphor-

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 6. S. 214.

säure entfernt ist, misst 15 CC. vom Filtrate ab und lässt dazu so viel Silberlösung fliessen, als zur Ausfällung des Chlors nach jener Titrirung sich als nöthig erwiesen hatte, und titrirt nun nach dem vorigen Paragraphen den Harnstoff mit Quecksilberlösung, ohne vorher das Chlorsilber abzufiltriren. Die Correction für den Chlorgehalt des Harns wird bei dieser Methode vermieden, aber die andere Correction wird dabei desto wichtiger.

Wenn z. B. 10 CC. Harn 14 CC. Silberlösung zur Ausfällung des Chlors und 22 CC. Quecksilberlösung für den Harnstoff brauchte, so sind 15 CC. der Harnbarytmischung mit 14 CC. Silberlösung vor der Harnstofftitrirung versetzt. Hätte nun diese Flüssigkeit 2 pCt. Harnstoff enthalten, so würden wenigstens 58 CC. Quecksilberlösung zur Hervorbringung der Endreaction nöthig sein, ist diese aber schon nach Zusatz von 22 CC. Quecksilberlösung und 15 CC. Normalsodalösung eingetreten, so sind also 36 CC. Quecksilberlösung weniger verbraucht, als von einer 2procentigen Harnstofflösung. Nach Pflüger's Berechnung der Correction werden ([15 + 14 + 16] —22) . 0,08 CC. = 1,84 CC. von den 22 CC. Quecksilberlösung als Correction in Abzug zu bringen sein, und der Harn nur 2,016 pCt. Harnstoff enthalten.

Jodhaltige Harne werden bei dieser Titrirung mit Silberlösung jodfrei erhalten und es wird also die Harnstoffbestimmung in ihnen nach der Ausfällung durch Silber eben so genau als in jodfreiem Harn.

Bestimmung des Harnstoffs durch Wägung nach Bunsen.

235. Es werden 30—40 Grm. von dem zu untersuchenden Harn in einem Kolben abgewogen, 8—10 Grm. gesättigter mit etwas Aetzammoniak vermischter Chlorbariumlösung hinzugefügt, wieder gewogen, dann durch ein trockenes gewogenes Filter, nachdem sich der Niederschlag gut ausgebildet hat, filtrirt in ein starkes unten zugeschmolzenes Glasrohr von schwer schmelzbarem Kaliglas, welches vorher gewogen ist und in welches ungefähr 3 Grm. reines krystallisirtes Chlorbarium eingebracht war. Man lässt durch einen lang ausgezogenen Trichter 25—30 Grm. von dem Filtrat in dies Glasrohr fliessen, wägt dasselbe abermals und schmilzt es dann mindestens 1 Decimeter über dem Flüssigkeitsniveau mit der Gasgebläselampe zu. Nachdem die Flüssigkeit vom Filter vollkommen abgelaufen ist, wird der Niederschlag auf dem Filter mit kohlensäurefreiem Wasser gesammelt ausgewaschen, getrocknet und mit dem Filter gewogen.

Das zugeschmolzene Glasrohr, welches die ammoniakalische Chlorbariumlösung gemischt mit dem Harn enthält, wird nun im Oelbade 3 bis 4 Stunden auf 200° erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit der Feile und mit Sprengkohle das Glasrohr vorsichtig geöffnet, der Niederschlag von kohlensaurem Baryt auf ein kleines gewogenes Filter gebracht und mit kohlensäurefreiem Wasser schnell ausgewaschen, dann mit dem Filter getrocknet und gewogen. Ist dann U das gesuchte Gewicht Harnstoff in 100 Grm. Harn, A die untersuchte Harnquantität, B das Gewicht der zugefügten Chlorbariumlösung, b das des abfiltrirten Niederschlags, C das Gewicht der in das Glasrohr eingeschmolzenen Harnbarytmischung und K das Gewicht des erhaltenen kohlensauren Baryt, so ist

$$U = \frac{30,457 \,.\, K\,(A + B - b)}{A\,C}$$

da aus 0,30457 Grm. Harnstoff 1 Grm. kohlensaures Baryt erhalten wird.

Bunsen hat sich überzeugt, dass die Extractivstoffe des Harns u. s. w. keine Fehler bei dieser Bestimmung veranlassen. Albuminstoffe, sowie viele Kohlehydrate entwickeln mit Wasser auf 200° erhitzt reichlich Kohlensäure (Verf.).

Bestimmung des Harnstoffs durch Wägung nach Heintz und Ragsky.

236. Man versetzt 20 CC. des Harns mit Platinchlorid, bis kein Niederschlag mehr entsteht und die Farbe der Flüssigkeit gelbroth geworden ist, lässt einige Stunden bedeckt stehen, sammelt das ausgeschiedene Kalium- und Ammoniumplatinchlorid auf einem kleinen gewogenen Filter, wäscht mit Spiritus gut aus, trocknet das Filter mit dem Niederschlage bei 100° und wägt.

Man misst dann ferner von dem Harne je nach seiner Concentration 2—5 CC. möglichst genau in eine nicht zu kleine Porcellan- oder Platinschale ab, fügt etwa das gleiche Volumen reine Schwefelsäure hinzu und erhitzt nun bis 200° auf dem Sandbade, indem man die Schale bedeckt hält, so lange feinblasiges Aufschäumen stattfindet und bis schweflige Säure entweicht. Nach dem Erkalten giesst man die rückständige Flüssigkeit in das etwa drei- oder vierfache Volumen destillirtes Wasser, filtrirt, wenn sich Kohle abgeschieden hat, fügt Platinchlorid hinzu, so lange Niederschlag entsteht und bis die Flüssigkeit durch ihre Farbe deutlich zeigt, dass sie überschüssiges

Platinchlorid enthält, lässt 12 Stunden bedeckt stehen, sammelt den Niederschlag auf gewogenem Filter, wäscht mit Spiritus gut aus, trocknet Filter und Niederschlag bei 100° und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure.

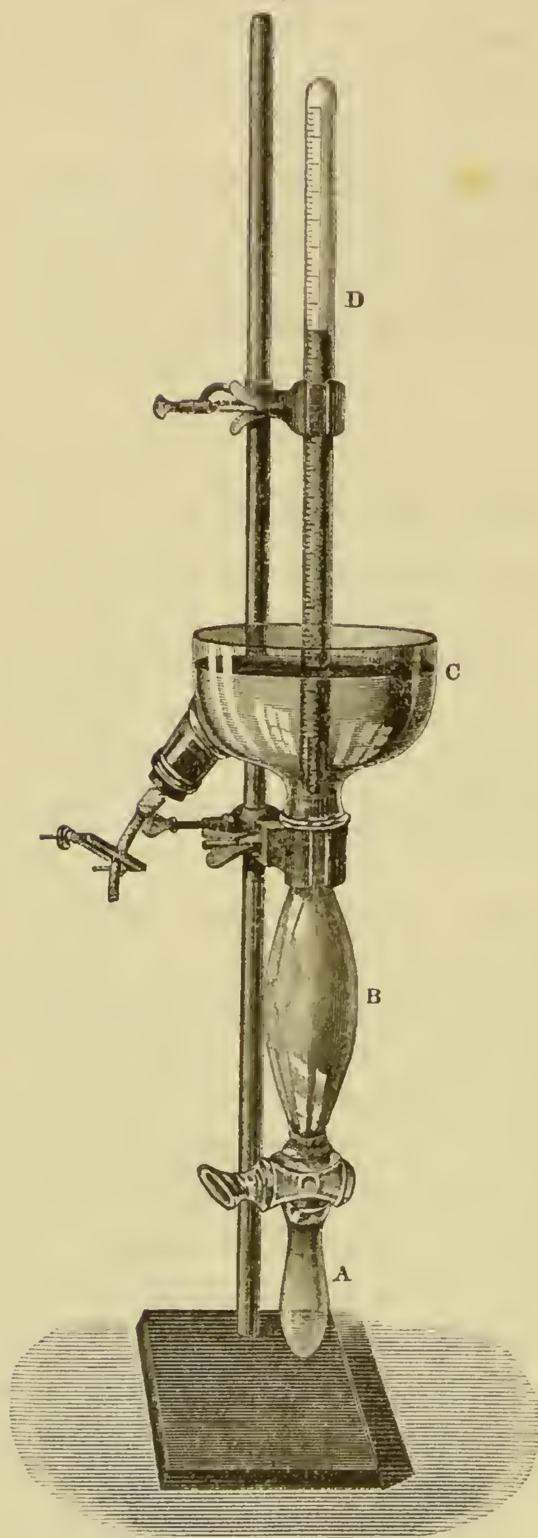
Berechnet man nun beide Platinniederschläge für 100 CC. Harn, zieht den ersten Niederschlag vom zweiten ab, so erhält man das Ammoniumplatinchlorid, welches der Harnstoff von 100 CC. Harn liefert, und diese Zahl multiplicirt mit 0,13423 giebt dann den Procentgehalt des Harnes an Harnstoff.

Harnstoffbestimmung im Harne nach Huefner.

237. Zur Ausführung der Methode von Huefner zur Bestimmung des Harnstoffs bereitet man sich frische concentrirte Lösung von unterbromigsaurem Natron, indem man nach der Vorschrift von Knop 100 Grm. Natronhydrat in 250 CC. Wasser auflöst, völlig erkalten lässt und dann 25 CC. Brom dieser Lauge zumischt. Von dieser Lösung reichen 50 CC. hin, um aus Salmiaklösung 130—150 CC. Stickgas zu entwickeln.

Fig. 14 (s. folg. Seite) erläutert den zur Bestimmung von Harnstoff dienenden Apparat. Das ungefähr 100 CC. fassende bauchige Gefäss *B* ist durch einen weiten Hahn abzuschliessen von dem unteren kolbenförmigen Ansatzstück *A*. Man füllt zunächst mittelst eines langen Trichterrohrs, während der ganze Apparat leer ist, das Gefässchen *A* mit dem zu untersuchenden Harn, der vorher, wenn er nicht an sich schon sehr verdünnt ist, mit gemessener Wassermenge passend verdünnt sein muss, man füllt damit auch die Hahnbohrung vollkommen an (das Gefässchen *A* + Hahnbohrungsinhalt ist ein für alle Mal zu calibriren), schliesst dann den Hahn und reinigt jetzt sorgfältig das Gefäss *B* von dem Reste des Harns. Jetzt füllt man das ganze Gefäss *B* mit einer Mischung gleicher Volumina destillirten Wassers und unterbromigsaurer Natronlauge bis zum Rande, füllt dann das äussere Gefäss *C* grösstentheils mit gesättigter Chlornatriumlösung, stülpt das gleichfalls mit dieser Chlornatriumlösung gefüllte graduirte und calibrirte Glasrohr *D* über die Oeffnung des Gefässes *B*, sobald aus diesem keine Gasbläschen mehr aufsteigen, und beginnt nun die Bestimmung, indem man durch Oeffnung des Hahns die Lauge zu dem Harn in *A* eintreten lässt. Die Bohrung des Hahns soll eine recht weite sein, damit die Lauge recht plötzlich sich mit

Fig. 14.



dem Harn mengt. Es zeigt sich alsbald stürmische Gasentwickelung, die sich bald verlangsamt, aber schwächer einige Zeit fortdauert. Ist die Gasentwickelung zu Ende, so verschliesst man das Rohr *D* unter der Chlornatriumlösung mit dem Finger, bringt es in destillirtes Wasser in einem Cylinderglas, stellt es senkrecht so auf, dass das innere Niveau mit dem äusseren zusammenfällt, liest nach halbstündigem Stehen bei gleichmässiger Temperatur das Volumen des gesammelten Gases ab, bestimmt ferner die Temperatur der Luft über dem Wasser, notirt den Barometerstand und berechnet nun den Harnstoffgehalt des Harns nach folgenden Daten: 1 Grm. Harnstoff liefert nach seiner Formel 372 CC. Stickstoff von 0° und 760 Mm. Druck, aber nach Huefner's Untersuchungen*) entwickelt die obige Brom-Natronlauge aus 1 Grm. Harnstoff nur 354,33 CC. N_2 von 0° und 760 Mm. Druck.

Ist nun p das Gewicht des Harnstoffs für 100 CC. Harn, ist ferner a die für die Bestimmung verwendete Quantität Harn, b der beobachtete Barometerstand, t die Temperatur bei der Ablesung des Volumen v des entwickelten Stickstoffs in Cubikcentimetern und b' die Tension des Wasserdampfes für diese Temperatur, so ist

$$p = \frac{100\, v\, (b - b')}{760\,.\,354{,}53\,.\,a\,(1 + 0{,}003665\,.\,t)}$$

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2. S. 350.

Es sind in neuerer Zeit viele Versuche gemacht, diese Harnstoffbestimmung mit unterbromigsaurem Natron genauer und bequemer zu machen*). Falck**) hat eine Bromlauge benutzt von 45 CC. Brom gemischt mit 400 CC. kalter Natronlauge (200 Grm. Aetznatron mit 500 CC. Wasser gelöst zur Lauge von 1,282 spec. Gewicht) und mit Wasser zu 1 Liter verdünnt. Er hat für seine Bestimmungen einen eigenthümlichen, ganz in Glas construirten Apparat angewendet und bei seinem Verfahren, dessen Schilderung hier zu weit führen würde, Stickstoffmengen erhalten, welche den aus dem eingebrachten Harnstoff berechneten Quantitäten sich viel mehr näherten, als dies bei den früheren Bestimmungen der Fall gewesen ist.

Je concentrirter die Bromlauge und je höher die Temperatur, desto schneller und vollständiger vollzieht sich die Zerlegung des Harnstoffs unter Stickstoffentwickelung, desto grösser ist aber zugleich die Gefahr, dass neben Stickstoff auch Sauerstoff entwickelt wird. In allen Fällen ist die Beendigung des Processes eine allmälig verlaufende und schon aus diesem Grunde ein Vorzug vor der Liebig-schen Titrirung nicht zu erkennen, wenn sie auch in einzelnen speciellen Fällen recht brauchbar ist, wo die Liebig'sche Methode gar nicht anwendbar ist. Harnsäure, Kreatinin, Ammoniak und mehrere andere Stoffe werden durch die Bromlauge unter allmäliger Entwickelung von Stickstoff zersetzt.

Nachweis und Bestimmung der Harnsäure im Harne.

238. Zum Nachweis der im Harn gelösten Harnsäure genügt das im § 107 Angegebene; nur sehr verdünnte Harne erfordern vor dem Zusatze der Salzsäure oder Essigsäure ein Abdampfen auf $^1/_4$ bis $^1/_{10}$ Volumen.

Zur Bestimmung der Harnsäure dienen meist 200 CC. Harn (wenn der Harn sehr verdünnt ist auch bis 400 CC.). Man fügt zur abgemessenen Portion desselben etwa 5—10 CC. Salzsäure oder concentrirte Essigsäure und lässt nun 24—48 Stunden bedeckt an kühlem Orte stehen, filtrirt dann durch ein kleines bei 110° getrocknetes und gewogenes Filter, sammelt mit der letzten Portion der aufzugiessenden Flüssigkeit den Niederschlag auf dem Filter, bringt mit einer Federfahne die letzten Krystalle auf dasselbe, wäscht mit destillirtem

---

*) Plehn, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1875. S. 582. u. Diss. Berlin. 3. Mai 1875. Yvon, Jahresber. f. d Thierchemie. Jahrg. 3. S, 51. Russel u. West, ebendas. Jahrg. 4. S. 216. Apjohn, Chem. News, January 22. 1875. Dupré, Journ. of the chem. Soc. 1877. I. p. 534. Maxwell Simpson und Okeefe, ebendas. 1877. I. p. 538. Depaire, Presse méd. belge 1877. No. 7. Méhu, Compt. rend. T. 89. p. 417, 486, 547. Barbier, Journ. pharm. chim. T. 30. p. 274. Fauconnier, Jay, Méhu, St. Martin, Bull. de la soc. chim. Paris (2) p. 33, 102, 105, 410 etc.

**) Arch. d. ges. Physiol. Bd. 26. S. 391.

Wasser aus, so lange eine Probe der ablaufenden Flüssigkeit durch salpetersaures Silber getrübt wird, trocknet dann Filter und Niederschlag bei 110° im Luftbade und wägt nach Erkalten über Schwefelsäure im Exsiccator.

In vielen Fällen gelingt es, den grössten Theil der Flüssigkeit abzugiessen oder mit einem Heber abzuheben, so dass das Filtriren theilweise vermieden wird. Einen grossen Theil des durch die Harnsäure mitgerissenen Harnfarbstoffs u. s. w. kann man durch schliessliches Auswaschen der Harnsäure auf dem Filter mit Alkohol entfernen, da jedoch nach den Untersuchungen von Heintz*) dieser Harnfarbstoff einen Fehler corrigirt, der durch die Löslichkeit der Harnsäure in Wasser bewirkt wird, so ist es rathsamer, nicht mit Alkohol zu waschen. Nach den Untersuchungen von Zabelin**) wird der durch die Löslichkeit der Harnsäure in Wasser bedingte Fehler corrigirt, wenn man Filtrat und Waschwasser misst und auf je 100 CC. dieser Flüssigkeit 0,0045 Grm. zu der gefundenen Harnsäurequantität addirt.

Da aber durch den Farbstoff im Niederschlage das Gewicht der Harnsäure bereits vergrössert ist, so wird man durch diese Correction zu viel erhalten, und Heintz***) schlägt daher nach neuen Versuchen vor, auf folgende Weise die Bestimmung auszuführen: Es werden stets 200 CC. Harn zur Bestimmung der Harnsäure verwendet (48 Stunden nach Zusatz von 10 CC. Salzsäure stehen gelassen), der Niederschlag stets auf einem Filter von 1—1⅛ Zoll Halbmesser gesammelt, mit möglichst wenig Wasser ausgewaschen: die Menge des Waschwassers braucht 30 CC. nicht zu übersteigen. Sollte durch irgend einen Umstand die Waschwassermenge wesentlich vergrössert sein (man darf das Auswaschen nicht eher einstellen, als bis einige Tropfen des Waschwassers eine saure Silbersalpeterlösung nicht mehr trüben), so wird der gefundenen Harnsäuremenge pro Cubikcentimeter Waschwasser über 30 CC. desselben 0,045 Milligrm. zuzurechnen sein.

Die Untersuchungen von Salkowski†) haben ergeben, dass alle diese Variationen der Harnsäurebestimmung durch Fällung mittelst ClH stets ein ungenaues und zwar zu niedriges Resultat ergeben,

*) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1846. S. 383.

**) Ann. Chem. Pharm. Supplem. Bd. 2. S. 313.

***) Ebendas. Bd. 130. S. 179.

†) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 5. S. 210 u. Salkowski u. Leube, Die Lehre vom Harn. Berlin 1882. S. 96.

denn er konnte in einer grossen Zahl von Bestimmungen nach Fällung der Harnsäure in 200 CC. Harn noch 0,044—0,07 Grm. Harnsäure aus dem Filtrate erhalten, indem er dies mit Ammoniak stark übersättigte, mit ammoniakalischer Silberlösung fällte, den Niederschlag in Wasser zertheilt mit Schwefelwasserstoff behandelte und die Harnsäure nach der Entfernung des Schwefelsilber mit Salzsäure fällte. Die Methode von Salkowski ist ohne Zweifel die genaueste, obwohl der Silberniederschlag eine constante Zusammensetzung nicht besitzt (vergl. § 106 am Ende), aber dieselbe ist so umständlich, dass man wohl in allen Fällen, in denen ein geringer Fehler nicht von Bedeutung ist, es vorziehen wird, die nach der Fällung mit ClH in Lösung bleibende Harnsäure von 200 CC. Harn zu 0,048 Grm. zu schätzen. Salkowski's Methode beruht auf folgenden Proceduren: Fällung des Harns, 250 CC., mit 50 CC. ammoniakalischer Magnesiamischung (1 Thl. krystallisirtes Magnesiumsulfat, 2 Thl. Chlorammonium, 4 Thl. Ammoniak von 0,924 spec. Gewicht und 8 Thl. Wasser), Filtriren, Abmessen von 240 CC. entsprechend 200 CC. Harn, Fällung mit 3 procentiger Silberlösung so lange in Ammoniak unlöslicher Niederschlag entsteht, Abfiltriren und Auswaschen des Silberniederschlags mit Wasser, Zerlegung mit Schwefelwasserstoff, Auskochen des Schwefelsilber mit Wasser, Abdampfen auf wenige Cubikcentimeter, Fällung mit Salzsäure und Abfiltriren der Harnsäure nach 24 Stunden.

Von Fokker*) ist empfohlen, die Harnsäure zunächst als Ammoniakverbindung zu fällen nach folgender Methode: Je 100 CC. Harn werden mit 5 CC. starker Sodalösung versetzt, nach 4—6 Stunden Stehen filtrirt und mit Wasser gewaschen. Filtrat und Waschwasser werden mit 10 CC. concentrirter Chlorammoniumlösung versetzt, nach 6—12 stündigem Stehen durch gewogenes, aschefreies Filter filtrirt, dann unten die Trichterröhre verstopft, das Filter mit dem Niederschlag mit verdünnter Salzsäure gefüllt, dann nach einigen Stunden ablaufen gelassen, mit Wasser der Niederschlag gewaschen bis zum Verschwinden der sauren Reaction, das Filter mit der Harnsäure getrocknet und gewogen. Dem Gewicht der Harnsäure wird für je 100 CC. Filtrat noch 14 Milligrm. für in Lösung gebliebene Harnsäure hinzugerechnet. E. Salkowski**) hat diese Methode von

---

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 10. S. 153.

**) Arch. f. path. Anat. Bd. 68.

Fokker in der Weise modificirt, dass er 200 CC. Harn mit 10 CC. starker Sodalösung mischt, nach einer Stunde 20 CC. starke Chlorammoniumlösung hinzufügt, 48 Stunden bei kühler Temperatur stehen lässt, dann durch gewogenes Filter filtrirt und 2—3 Mal wäscht. Man giesst dann auf $^1/_{10}$ Concentration mit Wasser verdünnte Salzsäure auf, lässt ablaufen und wiederholt das Aufgiessen von Säure, bis man erkennt, dass das harnsaure Ammoniak auf dem Filter ganz zu freier Harnsäure umgewandelt ist, sammelt die Harnsäure auf dem Filter nach 6 Stunden Stehen, wäscht zweimal mit Wasser, dann mit Alkohol bis zum Verschwinden der sauren Reaction, trocknet bei 110° und wägt Filter und Harnsäure.

In vorläufiger Mittheilung giebt E. Ludwig*) folgende Methode zur Bestimmung der Harnsäure: Durch ammoniakalische Silberlösung und ammoniakalische Magnesiamischung (vergl. oben Methode von Salkowski) werden Harnsäure und Phosphorsäure gefällt, der Niederschlag mit ammoniakhaltigem Wasser gut gewaschen, dann in der Wärme mit einer verdünnten Lösung von Schwefelkalium zerlegt. Es bildet sich hierbei harnsaures Kalium, das in Lösung übergeht. Man filtrirt dann, säuert Filtrat und Waschwasser mit Salzsäure schwach an, dampft auf dem Wasserbade bis auf wenige Cubikcentimeter ab, sammelt die nach Erkalten beim Stehen sich abscheidende Harnsäure auf Glaswollefilter, wäscht mit Wasser, trocknet bei 110°, wäscht dann noch mehrmals mit Schwefelkohlenstoff zur Entfernung von Schwefel, trocknet abermals und wägt.

Man hat auch verschiedene Titrirmethoden der Harnsäure angegeben, z. B. mit übermangansaurem Kali, mit Jod u. s. w. Es bedarf keines weiteren Beweises mehr, dass diese Methoden ganz falsche Resultate geben müssen, da der Harn ausser der Harnsäure noch andere leicht oxydirbare Stoffe enthält.

Nachweis und Bestimmung der Hippursäure und Benzoësäure im Harne.

239. Zum Nachweis der Hippursäure im Harne dienen in allen Fällen die Darstellungsmethoden, welche im § 142 beschrieben sind.

Auch zur Bestimmung der Hippursäure dient allein die Darstellung derselben aus abgemessener Quantität Harn, am Besten nach den Verfahren von Bunge und Schmiedeberg**). Die nicht zu

*) Wien. Acad. Sitzungsber. 7. April 1881.

**) Arch. f. exper. Pathol. Bd. 6. S. 235.

kleine Quantität Harn, vom menschlichen Harn mindestens 100 CC., wird mit Sodalösung alkalisch gemacht, filtrirt und das Filtrat zum dicken Syrup eingedampft, der Rückstand wiederholt mit kaltem Alkohol ausgezogen, vom filtrirten Auszug der Alkohol abdestillirt und der Rest durch Abdampfen verjagt, die rückständigen Massen mit Salzsäure versetzt und wiederholt (wenigstens 5 Mal) mit neuen Portionen Essigäther ausgeschüttelt, die klar abgegossene Lösung der Hippursäure im Essigäther wird mit Wasser gewaschen und dann bei mässiger Temperatur verdunstet. Der Rückstand wird mit frisch destillirtem Petroläther mehrmals ausgezogen, um Benzoësäure und andere Verunreinigungen zu entfernen, dann in wenig Wasser warm gelöst, mit etwas Thierkohle digerirt, filtrirt, bei höchstens 50—60° zur Krystallisation verdunstet, getrocknet und gewogen.

Diese Methode giebt gute Resultate*) und ist auch zur Bestimmung der Benzoësäure geeignet, wenn man den Rückstand des Petrolätherauszugs in Wasser warm löst, filtrirt, das Filtrat bei mässiger Temperatur verdunstet, den Rückstand trocknet und wägt. Jaarsveld und Stokvis**) verfahren gleichfalls nach obiger Methode, wandeln aber nachher die durch Petroläther gereinigte Hippursäure durch $^1/_4$ bis $^1/_2$stündiges Kochen mit starker Natronlauge in Benzoësäure um, säuren dann mit Salzsäure an, schütteln mehrmals mit Petroläther, bestimmen die in demselben gelöste Benzoësäure und berechnen aus der getrockneten und gewogenen Benzoësäure die Hippursäure (Multiplication des erhaltenen Werthes mit 1,467).

Bestimmung der Oxalsäure im Harne.

240. Zum Nachweis oder zugleich Bestimmung der Oxalsäure im Harne versetzt man nach der Methode von Neubauer***) 400 bis 600 CC. Harn mit etwas Chlorcalcium, dann mit überschüssigem Ammoniak, filtrirt, behandelt den Niederschlag mit Essigsäure unter Vermeidung eines zu grossen Ueberschusses, filtrirt nach 24stündigem Stehen ab, wäscht den Rückstand mit Wasser und löst ihn dann auf dem Filter mit wenig Tropfen Salzsäure (ausgeschiedene Harnsäure bleibt zurück), filtrirt und wäscht mit wenig Wasser nach, übersättigt

---

*) Schröder, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 323.

**) Arch. f. exper. Pathol. Bd. 10. S. 271.

***) Neubauer und Vogel, Analyse des Harns. 6. Aufl. S. 113 u. 216.

das Filtrat mit Ammoniak, lässt den Niederschlag sich absetzen, sammelt ihn nach 24 Stunden auf kleinem aschefreien Filter, trocknet und glüht im kleinen Platintiegel heftig, lässt über Schwefelsäure erkalten und wägt. Das Gewicht des gefundenen Aetzkalks multiplicirt mit 1,6071 giebt die Quantität der Oxalsäure $C_2H_2O_4$ in der untersuchten Harnmenge.

In eigenthümlicher Modification ist dies Verfahren von Fürbringer*) geprüft und viel benutzt.

Ein kürzeres Verfahren hat Schultzen**) angegeben: Ausfällung der Phosphorsäure durch Chlorcalcium, Filtration, Abdampfen, Extraction des Rückstandes mit Alkohol und des vom Alkohol nicht Gelösten mit Essigsäure. Der zurückbleibende oxalsaure Kalk wird geglüht und der Kalkgehalt bestimmt; es kann aber hier schwefelsaurer Kalk erhebliche Fehler bewirken.

Nachweis und Bestimmung des Kreatin, Kreatinin und Xanthin im Harne nach Neubauer.

241. Um im Harne den Kreatiningehalt zu bestimmen, hat Neubauer***) folgende Methode empfohlen: 300 CC. Harn werden mit Kalkmilch alkalisch gemacht und dann so lange Chlorcalciumlösung zugesetzt, als noch ein Niederschlag erfolgt, nach ein- bis zweistündigem Stehen filtrirt, Filtrat und Waschwasser schnell im Wasserbade fast zur Trockne verdunstet und noch warm mit 30—40 CC. Weingeist von 95 pCt. vermischt. Das Gemisch bringt man dann in ein Becherglas, spült die Schale mit kleinen Mengen Weingeist nach und lässt zur völligen Abscheidung alles Fällbaren 4—5 Stunden an einem kühlen Orte stehen. Die Flüssigkeit filtrirt man darauf durch ein möglichst kleines Filter, bringt endlich auch den Niederschlag darauf und wäscht, nachdem erstere völlig abgelaufen ist, mit kleinen Mengen Weingeist nach. Beträgt das gesammte Filtrat viel über 50 CC., so lässt man es am Besten auf heisser Eisenplatte bis auf 40—50 CC. verdunsten. Nach vollständigem Erkalten setzt man jetzt ½ CC. einer alkoholischen, absolut säurefreien Lösung von Chlorzink (spec. Gewicht 1,2) hinzu, rührt längere Zeit gut um, wodurch die Aus-

*) Fürbringer, Zur Oxalsäureausscheidung durch den Harn. Habilitationsschrift. Leipzig 1876.

**) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1869. S. 719.

***) Ann. Chem. Pharm. Bd. 119. S. 27.

scheidung des Niederschlags sehr beschleunigt wird, und lässt dann 3—4 Tage mit einer Glasplatte bedeckt im Keller stehen. Nach Ablauf dieser Zeit bringt man die abgeschiedenen Krystalle auf ein vorher getrocknetes und gewogenes Filter und benutzt zum Ausspülen immer wieder das erst erhaltene Filtrat. Ist dann alles Chlorzink-Kreatin auf das Filter gebracht, so wäscht man, sobald die Mutterlauge völlig abgelaufen ist, so lange mit kleinen Mengen Weingeist aus, bis dieser farblos abläuft und nicht mehr auf Chlor reagirt. Das Filter mit dem Kreatininchlorzink wird dann bei 100° getrocknet und gewogen.

Zum Nachweis des Kreatinin im Harne bedient man sich am Besten der Reaction von Weyl (vergl. oben S. 184).

Zur Abscheidung des Kreatinin wird sich wohl die Anwendung von Phosphorwolframsäure bei starkem Ansäuern des Harns mit Salzsäure nach Hofmeister*), Behandlung des Niederschlags mit Aetzbaryt im Ueberschuss, Ausfällung des Baryts aus dem Filtrate mit Schwefelsäure, Neutralisation, Abdampfen und Fällung mit Chlorzink in obiger Weise empfehlen.

Im normalen Zustande scheidet ein Mensch nach Neubauer täglich 0,6—1,3 Grm. Kreatinin im Harne aus.

Eine interessante Methode, Xanthin, Kreatinin und Harnstoff aus ein und derselben Harnmenge zu gewinnen, hat Neubauer**) angegeben: Im frischen Harne wird Schwefelsäure und Phosphorsäure durch Barytwasser und salpetersauren Baryt ausgefällt, der klar abgegossene Urin in grossen Porcellanschalen eingedunstet. Die syrupdicke von auskrystallisirenden Salzen abgegossene Mutterlauge von etwa 50 Liter Urin verdünnt man dann auf 4—5 Liter, versetzt mit etwa 1 Pfund Ammoniak und fällt mit salpetersaurem Silber. Nach dem Absetzen des Niederschlags wird die überstehende Flüssigkeit mit einem Heber abgezogen, die Silberverbindung auf einem Filter gesammelt und so lange mit Wasser gewaschen, bis das Filtrat nicht mehr auf Chlor reagirt. Der Niederschlag wird mit dem Filter so lange auf Filtrirpapier gelegt, bis man ihn mit Leichtigkeit vom Filter abnehmen kann; man löst ihn dann kochend in möglichst wenig Salpetersäure von 1,1 spec. Gewicht und erhitzt bis die Flüssigkeit hellgelb geworden ist, filtrirt etwa ausgeschiedene Flocken von Chlorsilber ab, und lässt

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 67.

**) Zeitschr. f. analyt. Chem. 1867. S. 233.

das Filtrat 8—12 Tage zur völligen Abscheidung von salpetersaurem Xanthinsilberoxyd stehen. Letzteres wird dann auf einem Filter gesammelt, gewaschen, mit ammoniakalischer Silberlösung digerirt, die gelbgefärbte Silberverbindung in Wasser zertheilt, nach Zusatz von etwas Salzsäure zum Kochen erhitzt und durch Einleiten von Schwefelwasserstoff filtrirt. Durch gut ausgezogene Thierkohle wird die Flüssigkeit entfärbt, dann eingedampft. Aus der concentrirten Flüssigkeit scheidet sich salzsaures Xanthin in harten Krystallen ab. Durch Auflösen in Ammoniak, Abdampfen und Auswaschen des Salmiak mit kaltem Wasser erhält man das Xanthin rein.

Aus der durch Ammoniak und salpetersaures Silber von Xanthin befreiten Mutterlauge wird das Ammoniak durch Abdampfen entfernt und das überschüssige Silber abgeschieden, dann filtrirt. Man verdunstet zum Syrup, mischt denselben mit dem etwa gleichen Volumen Alkohol, lässt 24 Stunden stehen, giesst von auskrystallisirten Salzen ab, mischt mit einer concentrirten, neutralen, alkoholischen Lösung von Chlorzink, nach kurzer Zeit scheidet sich nur schwach gelbgefärbtes Chlorzinkkreatinin ab.

Die von diesem Niederschlage abgegossene Flüssigkeit mischt man mit dem gleichen Volumen reiner Salpetersäure von 1,2 spec. Gewicht, lässt 24 Stunden in der Kälte stehen, bringt den salpetersauren Harnstoff auf poröse Ziegelsteine, lässt ihn hier trocknen, behandelt ihn in heissem Wasser gelöst mit reiner ausgezogener Thierhohle, filtrirt und kann dann den sich beim Verdunsten abscheidenden salpetersauren Harnstoff durch kleine Mengen von übermangansaurem Kali in seine wässerige Lösung eingetragen völlig entfärben.

Bezüglich des Nachweises von oxalursaurem Ammoniak im Harne vergl. vorn § 108.

Der Nachweis von Cystin in Harnniederschlägen ist leicht und sicher ausführbar nach den in § 122 beschriebenen Eigenschaften und Reactionen. Zu seiner quantitativen Bestimmung kann man sich einer von Loebisch*) angegebenen und befolgten Methode bedienen, aber der Harn giebt keine vollkommene Ausfällung durch Essigsäure u. s. w. wie eine reine Cystinlösung. Loebisch fällt mindestens $^1/_2$ Liter Harn mit 20 CC. von einer 20 pCt. Essigsäure enthaltenden Verdünnung, filtrirt durch gewogenes Filter nach 24 Stunden, wäscht den Niederschlag mit verdünnter Essigsäure, trocknet und wägt. Man löst

*) Liebig's Ann. Bd. 182. S. 231.

dann aus dem Niederschlag das Cystin mit etwas verdünnter Salzsäure, wäscht aus, trocknet und wägt das Filter mit dem Rest. Aus der salzsauren Lösung kann das Cystin durch Neutralisation mit Ammoniumcarbonat erhalten werden.

Bestimmung des Gehaltes im Harne an Phenol, Kresol, Brenzcatechin.

242. Es ist oben in § 224 die Methode von Baumann beschrieben, nach welcher man die Quantität der Schwefelsäure erfährt, welche im Harne mit aromatischen Körpern in Aetherverbindung enthalten ist. Um nun zu erfahren, wie viel Phenol, Kresol, Brenzcatechin, Indoxyl, Skatoxyl mit dieser Schwefelsäure in Verbindung sich befindet, sind diese Stoffe darzustellen resp. Indoxyl und Skatoxyl zugleich durch Oxydation in Indigo umzuwandeln. Phenol kann als Tribromphenol gewonnen, über Schwefelsäure getrocknet und gewogen werden; ist jedoch, wie es wohl stets der Fall ist, Kresol zugegen, so kann durch Bromwasser nur ein Gemenge von Tribromphenol mit einem Bromirungsproduct des Kresol erhalten werden, welches nur einen ungefähren Werth für das Kresol liefert. Brenzcatechin wird nach den Angaben von § 130 in Substanz dargestellt, getrocknet und gewogen. Die Titrirung von Phenol nach den Angaben von § 129 wird durch Kresol und seine Zersetzung mit Bromwasser in noch höherem Maasse ungenau als die Wägungsbestimmung.

Bestimmung des Gehaltes an Indoxylschwefelsäure im Harne nach Jaffé*).

Das Verfahren zur Bestimmung der Indoxylschwefelsäure ist etwas verschieden, je nachdem der Harn reich oder arm an derselben ist; eine einfache Vorprobe entscheidet hierüber (vergl. § 140).

1) Harne, die reich an Indoxylschwefelsäure sind, z. B. Pferdeharn.

Eine Probe des Harns, vielleicht 10 CC. werden mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure, welcher vorher einige gezählte Tropfen concentrirter Chlorkalklösung zugefügt sind, versetzt und schnell umgeschüttelt. Wird die Mischung bald rein blau gefärbt, so ist der Chlorkalkzusatz richtig getroffen, ist dagegen die Färbung der Mischung braun oder roth, so ist eine neue Probe anzustellen und der Salzsäure vor der Mischung ein paar Tropfen Chlorkalklösung weiter hinzuzufügen. Mehre derartige Proben orientiren über die Quantität

*) Arch f. d. ges. Physiol. Bd. 3. S. 448.

von Chlorkalklösung, welche der Salzsäure zuzusetzen ist, um eine vollständige Abscheidung des Indigo zu erhalten. Ist zu wenig zugesetzt, so ist die Bildung des Indigo unvollständig, wird zu viel Chlorkalklösung hinzugefügt, so wird Indigo oxydirt. Ist das richtige Verhältniss ermittelt, so werden 200—300 CC. Harn mit Salzsäure und der entsprechenden Quantität Chlorkalklösung gemischt, dann mindestens 12 Stunden stehen gelassen, auf einem mit Salzsäure extrahirten, gewaschenen, getrockneten und gewogenen Filter gesammelt, die abgeschiedene Hippursäure oder Benzoësäure mit heissem Wasser ausgewaschen, der rückständige Indigo zunächst dann mit verdünntem Ammoniak, endlich nochmals mit Wasser gewaschen, das Filter mit dem Indigo bei 105—110° getrocknet und gewogen.

Nach den Erfahrungen des Verf. ist es viel besser, der Salzsäure vor der Mischung mit dem Harne die erforderliche Menge der Chlorkalklösung hinzuzufügen, da sonst im Augenblicke der Spaltung Reductions- oder Condensationsproducte entstehen, die nachher nicht einfach durch eine Oxydation in Indigo übergeführt werden können. Auch gelingt die Reaction viel besser, wenn nur ungefähr 20 CC. Harn auf einmal mit der chlorhaltigen Salzsäure gemischt und dann 10 oder 15 solche Portionen nach geschehener Mischung und etwas Erkalten zusammengegossen werden, als wenn 200—300 CC. auf einmal in dieser Weise behandelt werden.

2) Harne, welche arm an indigobildender Substanz sind, z. B. Menschenharn, Hundeharn, 1000—1500 CC. Harn (von Hundeharn weniger) werden mit Kalkmilch gemischt und alkalisch gemacht, durch Zusatz von Chlorcalcium die Phosphorsäure ausgefällt, nach 12stündigem Stehen wird die klare Flüssigkeit abgegossen, das Uebrige filtrirt, dann zuerst über freiem Feuer, zuletzt auf dem Wasserbade zum Syrup abgedampft, indem von Zeit zu Zeit die Reaction geprüft und durch Zusatz von Sodalösung stets alkalisch erhalten wird. Der syrupöse Rückstand wird mit 500 CC. starken Alkohol einige Minuten erwärmt, dann in ein Becherglas gebracht, 12—24 Stunden stehen gelassen, filtrirt, von der Lösung der Alkohol abdestillirt und der Rückstand in Wasser gelöst mit einer sehr verdünnten Lösung von Eisenchlorid unter Vermeidung eines Ueberschusses gefällt. Nach dem Abfiltriren des Niederschlags wird durch Ammoniak das Eisen gefällt, zum Kochen erhitzt, das Eisenoxyd abfiltrirt, auf 200—500 CC. eingedampft und nöthigenfalls nach nochmaligem Filtriren mit dieser Lösung verfahren, wie es in 1 für indigoreiche Urine angegeben ist.

Die von Jaffé angegebenen Bestimmungen beweisen, dass dies Verfahren stets zu niedrige Werthe giebt, die Fällung mit Eisenchlorid führt Verluste herbei. Jaffé erhielt im Mittel aus 1 Liter Pferdeharn 152 Milligr., aus 1 Liter Menschenharn nur 6,6 Milligr. Indigo. Das Indigo des Skatoxyls ist im Niederschlage in noch nicht bestimmbarer Menge enthalten.

Bessere Resultate werden erhalten, wenn der Weingeistauszug des alkalischen Harnrückstandes durch vorsichtiges Abdampfen von Weingeist befreit, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und nach 1 behandelt wird.

Salkowski*) empfiehlt, den abfiltrirten Indigofarbstoff in Chloroform zu lösen und colorimetrisch vergleichend mit einer Indigolösung von bekanntem Gehalt zu bestimmen.

Kynurensäure wird nach Voit und Riederer**) im Hundeharn nach einer der Harnsäure entsprechenden Methode bestimmt. 100 CC. Harn werden mit 4 CC. concentrirter Salzsäure versetzt, der nach einigen Minuten beginnende Niederschlag wird nach 48 Stunden Stehen der Mischung auf gewogenem, bei 100° getrocknetem Filter gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen; Filter und Niederschlag bei 100° getrocknet und gewogen. Die Kynurensäure kann in diesem Niederschlage besonders mit Schwefel (Zersetzung der unterschwefligen Säure) verunreinigt sein und durch Behandeln der getrockneten Masse mit Schwefelkohlenstoff entzogen werden. Am vollständigsten wird Kynurensäure bestimmt werden können durch Fällen des stark sauer gemachten Harns mit Phosphorwolframsäure***), Behandlung des Niederschlags mit überschüssiger Aetzbarytlösung, Abfiltriren der heissen Lösung, Verdunsten auf kleines Volumen, Fällung kalt durch Ansäuern mit Salzsäure, Stehenlassen zur Krystallisation, Filtriren durch gewogenes Filter, Trocknen, Wägen.

Nachweis und Bestimmung des Albumin im Harne.

243. Im Harne können Peptone vorkommen, ohne dass andere Eiweissstoffe darin zu finden sind, treten aber coagulirbare Eiweissstoffe im Urin auf, so scheinen stets mindestens zwei verschiedene neben einander vorhanden zu sein †), nämlich Serumalbumin und Serumglobulin. Der Nachweis der Peptone geschieht nach § 188 und die Unterscheidung der Eiweissstoffe von einander nach den Vorschriften, welche in § 257 im Allgemeinen für seröse Flüssigkeiten gegeben sind.

Die in § 170 beschriebenen Reactionen sind ohne Weiteres zur

---

*) Arch. f. path. Anat. Bd. 68. S. 407.

**) Zeitschr. f. Biologie. 1867. S. 315.

***) Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 67.

†) Senator, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 60. 1874. u. viele neuere Untersuchungen.

Untersuchung auf Albuminstoffe im Harne, der nöthigenfalls vorher filtrirt werden muss, anwendbar; auch die Unterscheidung der einzelnen Albuminstoffe von einander kann ohne andere Vorbereitungen direct nach den in den Paragraphen 172—188 gegebenen Reactionen ausgeführt werden.

Die einfachste und beste Probe auf Albuminstoffe im Harne bleibt immer die folgende: Eine Portion Harn wird im Probirglase zum Kochen erhitzt; entsteht Niederschlag oder Trübung, so können sie von Eiweiss oder phosphorsaurem Kalke (kohlensaurem Kalke bei Pflanzenfressern) herrühren; löst sich der Niederschlag nicht auf Zusatz von Salpetersäure oder entsteht ein Niederschlag erst nach Zusatz dieser Säure, so enthält der Harn Albumin. Es ist vielfach versucht, die Quantität des Albumin im Harne nach der Höhe des flockigen Niederschlags zu schätzen, der nach der Coagulation eines bestimmten Volumen des eiweisshaltigen Harns im Probirglase sich nach bestimmter Zeit abgesetzt hat; diese Schätzung ist aber eine so trügerische, dass sie kaum einen Anhaltspunkt gewähren kann.

Zur quantitativen Bestimmung des Albumin ist ausser den Methoden der Wägung des durch Coagulation ausgeschiedenen Albumin noch eine Titrirungsmethode empfohlen. Die von Boedeker*) angegebene Titrirung beruht darauf, dass Albumin in essigsaurer Lösung durch Ferrocyankalium vollkommen gefällt wird. Diese Methode ist ziemlich umständlich und giebt Resultate, die oft sehr erheblich von denen abweichen, welche durch Wägung des durch Coagulation ausgefällten Albumin aus demselben Harne gewonnen werden. Von Tauret**) ist eine Titrirung mit Jodquecksilberjodkalium in saurer Lösung (3,32 Grm. Jodkalium, 1,35 Grm. Quecksilberchlorid, 20 CC. Essigsäure für 60 CC. Lösung) angegeben. A. Vogel***) hat ein seiner Methode zur Bestimmung des Fettgehaltes der Milch (siehe unten) nachgebildetes Verfahren auch zur Bestimmung des Albumingehaltes im Harne empfohlen. Man säuert den Harn sehr schwach mit Essigsäure an, verdünnt gemessene Portionen, 4 oder 6 CC. u. s. w. mit Wasser auf 100 CC., erhitzt zum Sieden, kühlt rasch ab, und untersucht, ob der Lichtkegel einer Stearinkerze durch eine 5,5 Cm. dicke Schicht der Mischung noch sichtbar ist. Man wiederholt den Versuch bei verschiedenen Verdünnungen, bis man die Concentration

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 111. S. 195.

**) Jahresber. d. Thierchemie. Jahrg. 1877. S. 240.

***) Arch. f. klin. Med. Bd. 3. S. 143 u. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 7. S. 152.

der Mischung gefunden hat, bei welcher das Flammenbild gerade verschwindet. Nach Dragendorf enthält dann die Flüssigkeit in 100 CC. 0,023553 Grm. Albumin; hieraus ist dann der Gehalt des Harns an Albumin leicht zu berechnen.

Die Versuche von Lang, Haebler, Bornhardt u. A.*), den Albumingehalt eines Harns aus dem Unterschiede der spec. Gewichte der Flüssigkeit vor und nach der Coagulation des Albumins durch Erhitzen und Säurezusatz zu bestimmen, haben genügende Resultate nicht ergeben. Die von C. Méhu**) angegebene Methode der Fällung der Eiweissstoffe durch Salpetersäure, Phenol, Essigsäure und Alkohol behufs quantitativer Bestimmung ist complicirt und umständlicher als das bei genügender Vorsicht stets ausreichende Verfahren von Scherer u. s. w.

Ist der Harn nicht zu dunkel gefärbt und hinreichend klar, so ist die Untersuchung des Albumingehaltes mittelst des Polarisationsapparates nicht allein schnell ausführbar, sondern auch bis auf 0,1—0,2 pCt. Fehlergrenze genau. Je dunkler gefärbt und je trüber der Harn ist, desto ungenauer ist die Bestimmung und oft ist sie ganz unmöglich. Trübungen, die durch Filtriren nicht zu entfernen sind, können oft durch einen Tropfen Essigsäure oder einige Tropfen kohlensaures Natron oder eine Spur Kalkmilch ohne Nachtheil für die spec. Drehung des Albumin gefällt werden, man erhält dann durch Filtration einen leicht und genau im Saccharimeter zu untersuchenden Harn, in vielen Fällen gelingt aber auch dies nicht.

Zur Bestimmung des Albumingehaltes mit dem Polarisationsapparate verfährt man nach den §§ 19—25 gegebenen Vorschriften. Man füllt, wenn die Flüssigkeit klar genug erscheint, eine 200 Mm. lange Röhre mit derselben, sieht durch die gefüllte Röhre der Länge nach gegen das Licht, um zu erkennen, ob die Flüssigkeit hell genug erscheint; ist dies nicht der Fall, so füllt man eine nur 100 Mm. lange Röhre, macht mit dieser dieselbe Probe und ist die Flüssigkeit in der Röhre klar durchsichtig, so legt man die Röhre in den gewählten Apparat ein, nachdem man sich von dem richtigen Stande des 0-Punktes am Instrumente überzeugt hat, macht die Farbe resp. Beschattung der beiden Seiten des Gesichtsfeldes gleich und liest bei Benutzung des Apparates von Soleil-Ventzke an Scala und Nonius den Gehalt an

*) Berl. klin. Wochenschr. 1869. No. 34.

**) Arch. génér. de méd. 1869. Mars. S. 257.

Albumin in Grammen für 100 CC. Harn ab, wenn die Röhre 100 Mm. lang ist. War die Röhre 200 Mm. lang, so ist die Angabe der Scala noch durch 2 zu dividiren, um den Procentgehalt des Harns zu erhalten.

In allen Fällen, wo der Polarisationsapparat von Soleil-Ventzke, Halbschattenapparat, oder Wild's Instrument nicht zu Gebote steht oder wegen dunkler Farbe des Harns u. s. w. nicht anwendbar erscheint, ist eine der im Folgenden beschriebenen Wägungsmethoden zur Bestimmung des Albumingehaltes zu empfehlen.

Bestimmung der gerinnbaren Albuminstoffe im Harne durch Wägung.

1) Methode von Scherer.

244. Man misst vom filtrirten Harne 50 oder 100 CC. in eine hinreichend geräumige Porcellanschale ab, erhitzt unter gutem Umrühren über einer kleinen Flamme (nicht auf dem Wasserbade) zum Kochen, fügt, falls keine gute flockige Gerinnung des Albumin erfolgt, vorsichtig einige Tropfen sehr verdünnter Essigsäure hinzu, erhitzt wieder zum Sieden und prüft abermals, ob die Flüssigkeit über dem Coagulum klar erscheint. Ist dies erreicht, so filtrirt man noch heiss durch ein kleines bei 120° getrocknetes und gewogenes Filter, sammelt auf demselben das ganze Coagulum, wäscht gleich nach dem Ablaufen der Flüssigkeit mit warmem Wasser, zuletzt mit etwas Alkohol sorgfältig aus, trocknet dann Filter und Coagulum im Luftbade bei 120° längere Zeit und wägt nach Erkalten über Schwefelsäure, trocknet nochmals einige Zeit und wägt wieder. Zeigt sich noch Gewichtsabnahme, so ist so lange zu trocknen, bis die Wägungen übereinstimmen. Man verbrennt dann das trockene gewogene Filter mit dem Albumin, wägt die Asche und zieht ihr Gewicht nach Abzug der Filterasche vom Gewichte des Albumin ab.

Bei dieser Bestimmung wird leicht etwas zu wenig gefunden, da auch beim vorsichtigsten Ansäuern mit Essigsäure oft etwas Albumin gelöst bleibt; man prüft in dieser Beziehung das Filtrat mit Essigsäure und Ferrocyankalium. Ist der Harn sehr reich an Albumin, so verdünnt man ihn vor dem Kochen mit seinem doppelten Volumen oder noch mehr Wasser, oder giesst in kleinen Portionen in das bereits siedende Wasser unter Umrühren.

2) Berzelius' Methode.

245. Am Genauesten wird das Gewicht des Albumin im Harne ermittelt, indem man 30 oder 50 CC. filtrirten und mit Essigsäure angesäuerten Harn in einer kleinen Schale im Wasserbade zur mög-

lichsten Trockne verdunstet, den Rückstand mit heissem Wasser und dann noch mit Alkohol gut auszieht, durch gewogenes Filter filtrirt, auf diesem den Rückstand sammelt, gut trocknet und wägt. Blieb in der Schale etwas Albumin zurück, so wird auch diese getrocknet mit diesem Reste und nach Erkalten über Schwefelsäure gewogen. Man legt dann das Filter mit dem Coagulum in die Schale, erhitzt allmälig zum Glühen und zum völligen Veraschen des Albumin und Filter, lässt über Schwefelsäure erkalten und wägt Schale und Asche. Die Berechnung des Procentgehaltes an Albumin ergiebt sich dann für den Harn aus den so gewonnenen Daten so einfach, dass sie nicht weiter auseinandergesetzt zu werden braucht.

Der Gehalt des Harns an Albumin beläuft sich meist nicht höher als 1 Grm., selten steigt er bis zu 4 Grm. für 100 CC.

Zur Bestimmung der Globulinsubstanzen im eiweisshaltigen Harne wird derselbe möglichst genau neutralisirt mit Natriumcarbonat, mit Magnesiumsulfat vollständig gesättigt und nach § 261 weiter wie bei serösen Flüssigkeiten verfahren.

Nachweis und Bestimmung von Pepton im Harn.

246. Hofmeister*) hat folgendes Verfahren zum Nachweis von Pepton im Harne angewendet: Ein halbes Liter des zu untersuchenden Harns wird in einer Schale mit 10 CC. concentrirter Lösung von Natriumacetat versetzt und concentrirte Lösung von Eisenchlorid tropfenweise hinzugefügt, bis die Flüssigkeit eine bleibende rothe Farbe angenommen hat. Ist der Harn sehr sauer, so stumpft man die Säure bis zur ganz schwach sauren Reaction ab, kocht und bringt nach dem Erkalten auf das Filter. Das Filtrat darf weder Eisen noch Eiweiss enthalten, also mit Essigsäure und Ferrocyankalium keinen Niederschlag geben. Dasselbe wird nun mit $^1/_{10}$ ihres Volumen concentrirter Salzsäure gemischt, eine saure Lösung von Phosphorwolframsäure so lange hinzugefügt, als Niederschlag entsteht, sofort filtrirt, der Niederschlag mit Wasser gewaschen, welches 3—5 pCt. Schwefelsäure enthält, dann der Niederschlag mit Barythydrat zerrieben, wenig Wasser hinzugefügt, kurze Zeit erwärmt**), dann filtrirt. Im Filtrate fällt man den Baryt mit verdünnter Schwefelsäure aus, und prüft nach

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 253. Bd. 5. S. 135. Bd. 6. S. 51 u. S. 264.

**) Dies Erwärmen ist unnöthig und gefährlich, weil hierbei Pepton zerlegt werden kann.

Abfiltriren des Bariumsulfat mit Natronlauge und Kupfervitriol ob die Purpurfärbung der Biuretreaction eintritt. Enthält der Harn im Liter 0,2 Grm. Pepton, so ist dieselbe gut erkennbar, bei Gehalt von 0,1 Grm. im Liter ist sie schwach.

Enthalten die Harne Mucin oder mucinähnliche Stoffe, so fällt man den Harn zunächst mit unzureichender Menge von Bleiacetat.

Zur quantitativen Bestimmung kann so weit dieselbe Methode der Darstellung dienen und dann durch Circularpolarisation das Pepton in der neutralisirten, durch Abdampfen concentrirten Lösung bestimmt werden, doch dürfte die spec. Drehung vom Pepton erst noch sorgfältig zu ermitteln sein. Die Biuretreaction zur quantitativen Bestimmung zu verwenden, ist mehrfach versucht, diese Methode ist durchaus zu verwerfen.

Untersuchung des Harns auf Traubenzucker und Bestimmung der Quantität desselben durch Circumpolarisation.

247. Zum Nachweis von Traubenzucker im Harne benutzt man gewöhnlich die Trommer'sche Probe (vergl. § 88), doch ist zu beachten, dass der normale Harn 1) Kupferoxyd reducirende Stoffe (Harnsäure und Extractivstoffe), 2) solche Substanzen enthält, welche Kupferoxydul in Lösung erhalten (Kreatinin, durch Thierkohle entziehbare Extractiv- und Farbstoffe). Diabetische Harne enthalten ausser Zucker nur wenig reducirende Stoffe und auch sehr wenig von denen, welche das Oxydul in Lösung erhalten. Ihre Untersuchung ergiebt mit der Trommer'schen Probe fast ohne Ausnahme schlagende Resultate. Ist jedoch auf Spuren von Zucker in ziemlich normalem Harne zu untersuchen, so wird zunächst Kochen einer Probe Harn mit concentrirter Sodalösung und etwas Wismuthoxyd, dann Kochen einer andern Probe mit dem Barfoed'schen Reagens, 3) Prüfung auf rechtsseitige Circularpolarisation, 4) die Gährungsprobe (vergl. oben S. 123) mit etwas Bierhefe und schwach saurem Harne Aufschluss geben können. Fallen diese Proben nicht entscheidend aus, so ergiebt vielleicht der mit Essigsäure angesäuerte, dann mit neutralem Bleiacetat gefällte, im Filtrate durch Schwefelwasserstoff von Blei befreite und auf $^1/_5$—$^1/_{10}$ Vol. bei mässiger Wärme abgedampfte Harn bei der Wiederholung der obigen Reactionen ein positives Resultat. Die Anwendung der Thierkohle zur Entfärbung und Entfernung störender Substanzen ist offenbar an sich zweckmässig, kann aber auch etwas Zucker entfernen. Um ganz geringe Spuren von Zucker aus grossen Mengen normalen Urins zu

sammeln, empfiehlt sich nur die Fällung mit basisch essigsaurem Blei und Ammoniak (vergl. oben S. 123).

Worm-Müller*) hat die Prüfung mit Fehling'scher Lösung empfindlicher gefunden als mit der Trommer'schen Mischung. Er empfiehlt zur Prüfung auf Zucker im Harne folgende Lösungen anzufertigen 1) eine Lösung von 25 Grm. Kupfersulfat in Wasser zu einem Liter verdünnt, 2) Weinsaures Kalinatron 100 Grm. aufgelöst mit soviel Natronlauge, dass bei der nachherigen Verdünnung mit Wasser zu 1 Liter darin gerade 40 Grm. NaOH enthalten sind. Man soll nun 5 CC. Harn im Probirrohr zum Kochen erhitzen, gleichzeitig eine Mischung von 1—3 CC. von der Kupferlösung mit 2,5 CC. der alkalischen weinsauren Kalinatronlösung zum Sieden bringen, beide gleichzeitig vom Feuer entfernen und 20—25 Secunden später beide Flüssigkeiten mischen. Die Kupferoxydulausscheidung kann alsbald eintreten, oft erfolgt sie erst nach einigen Minuten. Worm-Müller hält dies Verfahren für das genaueste, welches auch der Prüfung mit Wismuthoxyd in gewisser Hinsicht vorzuziehen sei.

Die quantitative Bestimmung des Traubenzuckers im Harne geschieht durch Circumpolarisationsmessung, Titrirung oder Wägung der bei der Gährung mit Hefe gebildeten Kohlensäure.

Zur Bestimmung des Zuckergehaltes in Urinen, welche nur sehr wenig davon enthalten, würde die Circumpolarisation in folgender Weise Verwendung finden können.

Man könnte eine grosse Quantität Harn mit Bleizuckerlösung fällen, filtriren, das Filtrat mit Bleiessig und etwas Ammoniak fällen, den Niederschlag in Alkohol zertheilt mit Schwefelwasserstoff zerlegen, filtriren, das Filtrat mit Thierkohle entfärben und bei mässiger Temperatur auf ein kleines Volumen abgedampft im Polarisationsapparate untersuchen. Hat man das ursprüngliche Harnvolumen, ebenso das Volumen des eingedampften Alkoholextractes bestimmt, so sind mit der bestimmten Circumpolarisation und Länge des Beobachtungsrohrs alle Momente zur Berechnung gegeben. Sind z. B. $1\frac{1}{2}$ Liter Harn in dieser Weise gefällt u. s. w. und endlich 21 CC. Alkoholextract nach dem Eindampfen erhalten und geben diese + 0,3 Scalentheile Drehung im Soleil-Ventzke'schen Apparate bei 0,2 M. Länge der untersuchten Flüssigkeitsschicht, so würden bei 0,1 M. Länge der Schicht + 0,15 Drehung gefunden sein und die 21 CC. Alkoholextract enthalten $\frac{21}{100} \cdot 0{,}15$ Grm. oder 0,0315 Grm. Traubenzucker. Da nun dies der ganze Gehalt der $1\frac{1}{2}$ Liter Harn an Traubenzucker repräsentirt, so enthält also 1 Liter Harn 0,021 Grm. Zucker.

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 27. S. 107.

Diabetischer Harn kann meist ohne alle Vorbereitung im Polarisationsapparate mit hinreichender Genauigkeit untersucht werden, wenn er nur völlig klar filtrirt ist. Durch Entfärbung mittelst Thierkohle erreicht man grössere Genauigkeit, doch stört die Farbe des Harns nicht bedeutend bei der Untersuchung mit dem Wild'schen Polaristrobometer bei starkem Natriumlicht oder dem Soleil'schen Apparate. Die Scala des letzteren Instruments (vergl. § 22 u. 23) giebt, bezogen auf die bestimmte Länge der untersuchten Flüssigkeitsschicht, direct in Grammen den Traubenzucker für 100 CC. Urin an. Im Uebrigen enthalten für diese Circumpolarisationsbestimmungen die §§ 19—25 die nöthigen Anleitungen.

Durchaus ungegründet ist die Angabe von Tscherinoff*), dass die Untersuchung mit dem Polarisationsapparate den Zuckergehalt des diabetischen Harns in nicht verlässlicher Weise angebe; die spec. Rotation des Traubenzuckers in wässeriger Lösung, auch im diabetischen Urine ist ganz constant, wenigstens innerhalb der hier in Betracht kommenden Grenzen.

Complicationen für diese Bestimmungen bietet der Gehalt des Harns, dessen Zuckerprocente zu ermitteln sind, an Albumin und Gallensäuren. Ist ein diabetischer Harn zu untersuchen, so ist es nicht nöthig, auf etwa zugleich enthaltene Gallensäure Rücksicht zu nehmen, da es nicht vorkommt, dass der Gehalt des Harns an diesen Stoffen gross genug wird, um eine bemerkbare Drehung bei 0,2 M. Länge des Beobachtungsrohrs zu bewirken. Hat man dagegen nach der obigen Angabe mit Bleiessig und Ammoniak gefällt u. s. w. und untersucht schliesslich den eingeengten Alkoholauszug im Polarisationsapparate, so kann sehr wohl eine Rechtsdrehung, die durch Gallensäure bewirkt ist, beobachtet werden. Ist diese Drehung allein durch Traubenzucker bewirkt, so verschwindet sie vollständig nach Zusatz von Hefe zur eingedampften (zur Entfernung des Alhohols) und mit etwas Wasser gemischten Flüssigkeit, wenn die Hefe bei gewöhnlicher Temperatur drei Tage auf die Flüssigkeit einwirkt. Man filtrirt darauf die Flüssigkeit, wäscht mit etwas Alkohol nach, verdunstet auf kleines Volumen, misst dasselbe und bestimmt die Circumpolarisation. Ist eine Rechtsdrehung noch vorhanden, so kann diese nur von andern Stoffen, Gallensäuren, Milchzucker u. s. w. herrühren.

Enthält der Harn neben Zucker auch Albumin, so ist dies durch

*) Sitzungsber. d. Wiener Akad. Bd. 51. Abth. II. Seite 412.

Kochen von 100 CC. Harn unter Zusatz von ein Wenig Essigsäure zu coaguliren, und man verfährt zu diesem Zwecke in allen Stücken mit dem Harne, wie es bezüglich der Harnstoffbestimmung § 232 angegeben ist, gleichgültig, ob man den Harn dann direct oder nach Fällung mit Bleiessig u. s. w. auf Zucker untersuchen will.

Bestimmung des Traubenzuckers im Harne durch Titrirung mit Fehling'scher Kupferoxydlösung.

248. Anfertigung der Titrirflüssigkeit: Man löst 34,65 Grm. reines krystallisirtes Kupfersulfat in etwa 160 CC. Wasser auf, löst ferner 173 Grm. krystallisirtes, völlig reines weinsaures Kali-Natron in 600—700 Grm. Natronlauge von 1,12 spec. Gewicht, mischt dann beide Flüssigkeiten gut und verdünnt das Gemisch, bis es gerade 1 Liter beträgt. Die Flüssigkeit zerlegt sich leicht beim Aufbewahren, erhält sich am Besten bei kühler gleichbleibender Temperatur im Dunkeln und in völlig gefüllten und gut verschlossenen Flaschen. Zur Titerstellung der Fehling'schen Lösung empfiehlt Scheibler eine wässerige Lösung von rein krystallisirtem Traubenzuckerchlornatrium zu benutzen. Jetzt ist sehr reiner krystallisirter Traubenzucker im Handel.

Um im diabetischen Harne mit dieser Flüssigkeit den Zuckergehalt zu bestimmen, prüft man zunächst eine kleine Portion der Kupferlösung im Probirglase, ob sie nach Kochen und nachherigem Stehen, etwa nach einer Stunde, einen Niederschlag von Kupferoxydul zeigt. Ist dies nicht der Fall, so ist sie zur Titrirung geeignet. Man misst von derselben mit Pipette oder Bürette 20 CC. ab, lässt sie in einen Kolben fliessen und verdünnt sie mit dem vierfachen Volumen Wasser. Ferner lässt man von dem Harne, dessen Zuckergehalt bestimmt werden soll, 10 CC. in einen Messcylinder fliessen, verdünnt durch Wasserzusatz auf 100 CC. (ist der Harn nur in geringem Grade zuckerhaltig, so verdünnt man wenig oder gar nicht), mischt gut und füllt mit der Mischung eine Bürette. Man erhitzt nun durch eine kleine Flamme die verdünnte Kupferlösung zum beginnenden Kochen, versetzt zunächst mit 2 CC. von dem verdünnten Harn, lässt ein paar Secunden kochen und beobachtet, ob die Flüssigkeit noch blau bleibt, fügt, wenn dies der Fall ist, 1 CC. des verdünnten Harns hinzu, kocht, fügt wieder 1 CC. Harn hinzu u. s. w., bis die Flüssigkeit über dem entstandenen rothen Niederschlage von Kupferoxydul farblos geworden ist. Man liest dann ab,

wie viel von dem verdünnten Harne verbraucht ist, um das ganze Kupferoxyd der abgemessenen Lösung zu reduciren, und berechnet daraus den Procentgehalt des unverdünnten Harns an Zucker.

Von der obigen von Fehling angegebenen Kupferoxydlösung erfordert 1 CC. gerade 5 Milligr. Traubenzucker zur Reduction des Kupferoxyds, 20 CC. derselben entsprechen sonach 0,1 Grm. Zucker; die zur völligen Entfärbung der 20 CC. Kupferlösung erforderliche Quantität Harn enthält also 0,1 Grm. Zucker. War nun z. B. zu den 20 CC. Lösung 15,5 CC. des verdünnten Harns erforderlich zur völligen Entfärbung und war der Harn auf $^1/_{10}$ verdünnt, so enthalten 1,55 CC. Harn 0,1 Grm. und 100 CC. Harn also $\frac{100 \,.\, 0{,}1}{1{,}55}$ oder 6,45 Grm. Zucker.

Die Endreaction, nämlich die völlige Entfärbung der Flüssigkeit ist nur nach guter Abscheidung des Kupferoxydulniederschlags sicher zu erkennen.

Man filtrirt deshalb, sobald man blaue Farbe in derselben nicht mehr ganz deutlich erkennt, eine Portion der Flüssigkeit, schüttet das Filtrat zur übrigen Flüssigkeit zurück, wenn es noch blau ist, erhitzt und setzt die Titrirung fort. Zeigt die filtrirte Probe, wenn auch nur schwache gelbe Färbung, so ist zuviel Zuckerlösung zugefügt und der Ueberschuss bei fehlendem Kupferoxyd durch die Natronlauge zerstört. Die früher empfohlenen Endproben mit Salzsäure und Ferrocyankalium, Prüfung mit Fehling'scher Lösung u. s. w. sind aus mehreren Gründen zu verwerfen.

Haben diese Proben das eine oder andere Resultat ergeben, so wiederholt man die Titrirung, deren Ende sich jetzt genauer bestimmen lässt, nachdem die Grenzen des Zuwenig oder Zuviel bereits bekannt sind. Zur Gewinnung eines genauen Resultates ist mindestens dreimalige Titrirung erforderlich.

Steht die entfärbte Flüssigkeit mit dem Kupferoxydulniederschlag einige Zeit bei gewöhnlicher Temperatur an der Luft, so wird ein Theil des Kupferoxyduls wieder gelöst unter Oxydation und Wiederblaufärbung der Flüssigkeit; eine begonnene Titrirung ist daher ohne Unterbrechung zu Ende zu führen und eine nachherige Wiederkehr der blauen Farbe beim Stehen an der Luft nicht zu beachten.

Enthält ein Harn nur sehr geringe Spuren von Zucker, so behandelt man ihn mit Bleizuckerlösung, Bleiessig und Ammoniak u. s. w., wie es im vorigen Paragraphen angegeben ist.

Nachdem der Bleiniederschlag in Alkohol zertheilt und durch Einleiten von Schwefelwasserstoffgas zerlegt und das Schwefelblei abfiltrirt ist, wird das alkoholische Filtrat auf dem Wasserbade zum Syrup verdunstet, dieser Rückstand in etwas Wasser gelöst. Man misst das Volumen dieser Lösung, und füllt dann damit eine Bürette, verdünnt dann 10 CC. Fehling'scher Kupferlösung mit 40 CC. Wasser, mischt gut und lässt von dieser Mischung 5 oder 10 CC. genau abgemessen in einen Kolben fliessen und fügt bei schwachem Kochen dieser verdünnten Kupferlösung im Kolben in kleinen Portionen so lange jene Zuckerlösung aus der Bürette hinzu, bis die völlige Entfärbung erreicht ist. Die Berechnung ist dann einleuchtend.

Um Zucker in eiweisshaltigem Harn zu titriren, verfährt man zur vorhergehenden Entfernung des Eiweisses in der Weise, wie es behufs der Harnstofftitrirung § 232 angegeben ist.

Der Gehalt des Harns an Harnsäure bedingt im diabetischen Harne meist keinen wesentlichen Fehler, wollte man dagegen einen normalen Harn direct titriren, so würde man ganz fehlerhafte Resultate erhalten.

Auf Liebig's Veranlassung ist von Knapp*) zur Bestimmung des Traubenzuckergehaltes ein Verfahren geprüft und empfohlen, welches auf der Reduction von Cyanquecksilber in alkalischer Lösung durch Traubenzucker beruht. 10 Grm. trockenes Cyanquecksilber werden in Wasser gelöst, 100 CC. Natronlauge von 1,145 spec. Gew. hinzugefügt und die Flüssigkeit auf 1 Liter verdünnt. Man misst 40 CC. dieser Lösung in eine Porcellanschale ab, erhitzt zum Sieden und lässt die etwa $^1/_2$ procentige Zuckerlösung wie bei dem Fehling'schen Verfahren hinzufliessen, bis alles Quecksilber reducirt ist. Um dann schliesslich zu erkennen, ob die Reduction vollständig geschehen ist, giesst man in ein Bechergläschen etwas stärkstes Schwefelammonium, spannt darüber ein Stück feines schwedisches Filtrirpapier und bringt einen Tropfen der zu prüfenden Flüssigkeit auf dies Papier. Es entsteht ein brauner Fleck, wenn noch nicht alles Quecksilber reducirt ist.

Nach Worm-Müller**) ist die Knapp'sche Cyanquecksilberlösung zur Titrirung mit dem 3—4 fachen Volumen Wasser zu verdünnen und die Zuckerlösung aus der Bürette sehr langsam zuzusetzen. Bei Benutzung der unverdünnten Lösung wird zu wenig Zucker angezeigt, ebenso bei zu schnellem Zusatz der Zuckerlösung. Lässt man die Mischung nach beendeter Titrirung einige Zeit stehen, so löst sich besonders bei concentrirten Harnen allmälig Quecksilber wieder auf.

Statt der Prüfung mit Schwefelammonium empfiehlt Worm-Müller die von Pillitz angegebene Reaction mit starkem Schwefelwasserstoffwasser und Salzsäure oder Essigsäure.

Nach meinen Versuchen mit menschlichem Harn lässt die Knapp'sche Methode die Genauigkeit der Bestimmung mit der Fehling'schen Flüssigkeit nicht erreichen.

---

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 154 S. 252.

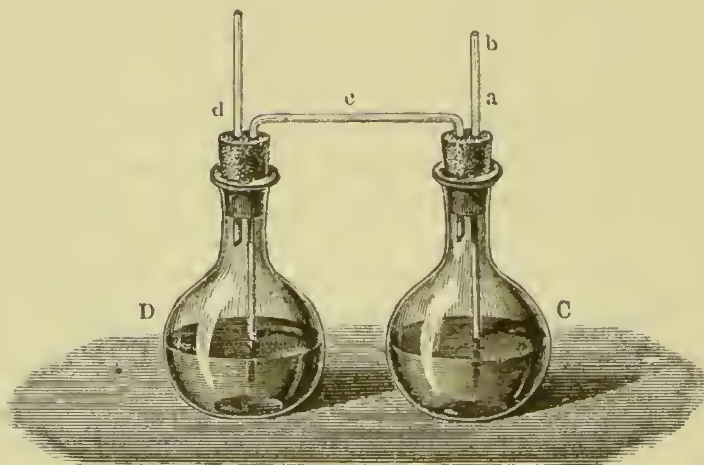
**) Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 26. S. 78 u. S. 87.

Bestimmung des Traubenzuckers im Harne durch Gährung.

249. Obwohl die Zerspaltung des Zuckers im Harne durch Gährung nie so vollkommen ist, dass die dabei gebildete Kohlensäure ein sehr genaues Mass für den Zucker abgeben könnte, ist doch diese Bestimmungsmethode um so weniger zu verwerfen, als sie die sicherste qualitative Controle dafür giebt, ob der Harn geringen oder reichlichen Zuckergehalt besitzt.

Zur Ausführung dieser Probe ist ein Apparat sehr geeignet, den Will und Fresenius zur Kohlensäurebestimmung empfohlen haben; Fig. 15 giebt eine Darstellung des Apparates, welche eine detaillirte Beschreibung überflüssig macht. In den Kolben *C* bringt man ein Wenig durch Schlämmen mit Wasser und Absetzenlassen gereinigte Hefe, lässt aus einer Bürette oder Pipette 20 CC. vom Harne darauffliessen, füllt den Kolben *D* ein paar Linien hoch mit concentrirter Schwefelsäure, setzt die Stopfen auf beide Kolben luftdicht auf, verschliesst auch die Oeffnung des Röhrchen *a* mit einem Stöpfchen *b* und wägt nun den ganzen so gefüllten Apparat. Nach kurzer Zeit

Fig. 15.



wird sich dann beim Stehen bei gewöhnlicher Temperatur der Eintritt der Gährung dadurch bemerklich machen, dass einzelne Luftbläschen in dem Kolben *C* an die Oberfläche der Flüssigkeit steigen, dann werden auch grössere Luftblasen bald durch die Schwefelsäure im Kolben *D* streichen; diese Entwickelung wird immer stürmischer im Verlaufe einiger Stunden, man muss jedoch 2 Tage lang bei 20—30° stehen lassen, um sicher zu sein, dass die Gährung völlig beendet ist. Ist sie völlig zu Ende, so klärt sich die Flüssigkeit, indem sich die

Hefe absetzt, und es entweichen keine Gasblasen durch die Schwefelsäure. Man saugt dann, nachdem das Stöpfchen *b* entfernt ist, am Röhrchen *d* so lange Luft durch den Apparat, bis man sicher ist, dass alle Kohlensäure, die sich noch in dem Kolben befand, durch atmosphärische Luft ausgetrieben ist, setzt das Stöpfchen *b* wieder auf und wägt den Apparat abermals. Durch Subtraction des jetzt gefundenen Gewichts von dem des Apparates vor der Gährung erhält man das Gewicht der entwichenen Kohlensäure und dies multiplicirt mit 2,045 giebt das Gewicht des Zuckers, welcher in Alkohol und Kohlensäure bei dem Versuche zerfallen war.

Aufsuchung der Gallensäuren im Harne und annähernde Bestimmung ihrer Quantität.

250. Kommt es nur darauf an, zu ermitteln, ob Gallensäuren überhaupt im Harne enthalten sind, so fällt man denselben mit Bleiessig und ein wenig Ammoniak, wäscht den Niederschlag etwas mit Wasser, kocht ihn dann mit Alkohol und filtrirt heiss. Die Bleisalze der Gallensäuren lösen sich in heissem Alkohol, und wenn man nun diese Lösung mit einigen Tropfen Sodalösung versetzt im Wasserbade zur Trockne verdunstet, den Rückstand mit absolutem Alkohol auskocht, so gehen die Natronsalze der Gallensäure in Lösung über und werden beim Verdunsten des filtrirten alkoholischen Auszugs auf kleines Volumen, Fällen und Stehenlassen mit einem Ueberschuss von Aether in verschlossener Flasche oft krystallisirt erhalten. Man braucht, wenn man nur prüfen will, ob es im Allgemeinen Gallensäuren sind, nicht abzuwarten, bis die durch Aether bewirkte Fällung krystallinisch wird, sondern kann den harzigen Niederschlag gleich in etwas Wasser lösen und die Pettenkofer'sche Probe damit anstellen (vergl. § 155), ausserdem im Polarisationsapparate die Rechtsdrehung der concentrirten Lösung der Natronsalze constatiren; will man aber erfahren, ob Glycocholsäure, Taurocholsäure oder Cholalsäure zugegen sind, so lässt man die durch Aether gefällten Natronsalze am Besten zunächst krystallisiren, giesst dann den Aether ab, löst die Krystalle in wenig Wasser und versetzt mit einem Tropfen Chlorbariumlösung. Entsteht ein Niederschlag, so ist die Cholalsäure zugegen, im Uebrigen verfährt man nach § 158.

Um direct im Harne auf Gallensäuren prüfen zu können, ist von

Strassburg*) empfohlen, ein Stück Filtrirpapier in den zu untersuchenden Harn zu tauchen, nachdem dem Harne ein wenig Rohrzucker zugesetzt ist. Man lässt das Papier dann trocknen und bringt mit einem Glasstabe einen Tropfen reine concentrirte Schwefelsäure darauf. Nach ungefähr $^1/_4$ Minute entsteht an der Stelle eine besonders im durchfallenden Lichte gut erkennbare, schön violette Färbung, wenn der Harn Gallensäure enthält. Die Färbung tritt noch bei sehr bedeutender Verdünnung ein.

Der Gehalt des Harns an Gallensäure ist selbst bei sehr hochgradigem Icterus nur sehr unbedeutend.

Um ihn annähernd zu bestimmen, verfährt man, was die Isolirung der Gallensäure in einem gemessenen Volumen (mindestens 400 CC. Harn) anbetrifft, so wie es oben bezüglich des qualitativen Nachweises angegeben ist. Die alkoholische Lösung der gallensauren Natronsalze nöthigenfalls durch etwas Thierkohle entfärbt und auf ein kleines Volumen eingeengt wird jetzt zunächst gemessen und dann im Polarisationsapparate die Drehung bestimmt.

Nachweis und Isolirung von Allantoïn, Leucin und Tyrosin, Milchsäure, fetten flüchtigen Säuren, Inosit, Bernsteinsäure im Harne.

251. Zum sicheren Nachweis von Leucin und Tyrosin im Harne ist es nöthig, wenigstens einigermassen diese Stoffe von anderen zu isoliren. Das Tyrosin scheidet sich bei sehr reichem Gehalte des Harns zum Theil in feinen Krystallnadeln als Sediment aus. Es löst sich dann leicht nach dem Abfiltriren in Ammoniak und krystallisirt beim Verdunsten des Ammoniak in feinen seidenglänzenden Nadeln wieder aus. Dieses Vorkommen eines Sedimentes von Tyrosin ist jedoch ein äusserst seltenes. Mit dem aus Ammoniak umkrystallisirten Tyrosin sind dann die im § 148 angegebenen Reactionen anzustellen.

Um Leucin und Tyrosin aus dem Harne darzustellen, fällt man mit Bleiessig und filtrirt, behandelt das Filtrat mit Schwefelwasserstoff und verfährt auch im Uebrigen ganz wie es in § 116 nach Hlasiwetz und Habermann und in § 148 S. 219 angegeben ist.

Zur annähernden Bestimmung der Quantität ist kein anderes Mittel bekannt als die möglichste Isolirung durch Umkrystallisiren und Wägung.

---

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 4. S. 461.

Die Aufsuchung von Allantoïn im Harne geschieht nach den § 109 beschriebenen Darstellungsmethoden; zum Beweis, dass man Allantoïn vor sich hat, ist wenigstens die Analyse der Silberverbindung erforderlich.

Zur Aufsuchung von Inosit fällt man mehrere Liter Harn zunächst mit Bleizuckerlösung bei schwach saurer Reaction so lange Niederschlag entsteht, filtrirt und fällt das Filtrat mit Bleiessig so lange Niederschlag entsteht, fügt dann noch etwas Ammoniak hinzu, rührt um und lässt zwei Tage ruhig stehen. Man zerlegt dann den abfiltrirten und in Wasser zertheilten basischen Bleiniederschlag mit Schwefelwasserstoff, dampft das Filtrat nach völliger Abscheidung des Bleies zum Syrup ein und behandelt diesen mit viel absolutem Alkohol. Der abfiltrirte Niederschlag wird in wenig Wasser gelöst und fractionirt mit Alkohol und Aether gefällt. Die Scherer'sche Probe ergiebt von den erhaltenen Krystallen die Identität mit Inosit (vgl. § 93).

Auch hinsichtlich des Nachweises von Milchsäure, Bernsteinsäure, flüchtigen fetten Säuren der Gruppe $C_n H_n O_2$ sind in der dritten Abtheilung bei diesen einzelnen Körpern die verwendbaren Methoden bereits angegeben.

Untersuchung der Farbstoffe des Harns.

252. Von besonderer Wichtigkeit ist die Auffindung von Gallenfarbstoffen und den näheren Zersetzungsproducten des Blutfarbstoffs im Harne. Zum Nachweis der letzteren dient besonders das Verhalten im Spectrum, welches keine Verwechselung mit irgend einem der bis jetzt untersuchten Farbstoffe, die im Harne vorkommen, zulässt. Ein durch Methämoglobin roth, braun bis schwarz gefärbter Harn giebt beim Kochen flockigen, je nach der Reaction des Harns braunen oder grünlichen Niederschlag. Zusatz von Mineralsäuren bringt braunen Niederschlag hervor, besonders Salpetersäure. Im Spectrum untersucht, zeigt ein solcher Harn den charakteristischen Streifen (vergl. S. 296—298).

Hämoglobin selbst kommt nur in unversehrten Blutkörperchen im Harne vor. Man entdeckt es 1) durch mikroskopische Untersuchung des Sedimentes, welches sich beim Stehen binnen einiger Stunden absetzt, 2) durch die Prüfung des Harns im Spectrum, wo sich noch bei geringem Gehalte an Blutkörperchen die charakteristischen Streifen des Oxyhämoglobins zeigen (vergl. S. 293 u. 298).

Bezüglich der Untersuchung des Harns auf Gallenfarbstoffe vergl. § 165. Schwanda*) hatte empfohlen, den Harn einzudampfen, den Rückstand in Wasser zu lösen und zu filtriren, das Filter mit kaltem Wasser zu waschen, zu trocknen, mit Chloroform zu extrahiren und diese Lösung mit Salpetersäure zu prüfen. Die Fällung des Harns mit Kalkmilch, Einleiten von CO_2, Stehenlassen für einige Stunden, Abfiltriren und Extraction des Niederschlags mit Chloroform und etwas Essigsäure (vergl. S. 250) ist diese Behandlung jedenfalls vorzuziehen, auch bei Anwesenheit von Methämoglobin allein zur Aufsuchung von Bilirubin geeignet.

Aus stark icterischem Harne kann man oft ohne Weiteres durch Schütteln mit Chloroform, Abgiessen von demselben, Verdunsten des Chloroform, nochmaliges Lösen des Rückstandes in wenig Chloroform und Verdunstenlassen auf dem Uhrglase rothe rhombische Prismen von Bilirubin erhalten, welche mit Salpetersäure mikroskopisch sehr schön die Regenbogenfarben zeigen, in Alkalien sich leicht lösen und an der Luft bald eine grüne Lösung geben. Rücksichtlich der weiter zu beachtenden Verhältnisse vergl. § 165. Hinsichtlich der Reactionen des normalen braunen und der pathologischen rothen Farbstoffe ist in §§ 166, 219 u. 242 bereits das Wichtigere, so weit etwas bekannt ist, auseinandergesetzt.

Harnniederschläge, Harnsteine, Nierensteine.

Allgemeines.

253. Harnsteine und Harnsedimente können organisirte und chemische, nicht organisirte Körper enthalten. Auf die organisirten Theile derselben, Blutkörperchen, Eiterkörperchen, die sogenannten Fibrin- oder Nierencylinder u. s. w., die durch ihre mikroskopischen Formen zu erkennen sind, kann hier nicht Rücksicht genommen werden, aber auch die chemischen Ausscheidungen im Harne bieten schon grosse Mannigfaltigkeit. Von anorganischen Körpern sind besonders phosphorsaurer Kalk, phosphorsaure Magnesia-Ammoniak in diesen Sedimenten häufig; von organischen Oxalsäure, Harnsäure, erstere stets als Kalksalz, letztere frei oder an Kali, Natron, Ammoniak, Kalk gebunden; seltener erscheinen bei Menschen in den Sedimenten kohlensaurer Kalk, Xanthin, Cystin, Tyrosin, Fette. Schwefel-

*) Zeitschr. f. anal. Chem. Vol. VI. S. 501.

saurer Kalk wurde einmal als Sediment im menschlichen Harne gefunden*). Bei Pflanzenfressern tritt kohlensaurer Kalk häufig als Harnsediment, auch in Blasensteinen auf; oxalsaurer Kalk ist im Pferdeharn sehr häufig als Sediment gefunden, und bildet zuweilen grosse krystallinische Concremente bei Schweinen. Concremente von phosphorsaurer Magnesia-Ammoniak und phosphorsaurem Kalke sind bei Thieren nicht selten beobachtet, mehrmals bei Schafen auch kieselsäurereiche Steine.

Mikroskopische Untersuchung der Harnsedimente.

Man lässt den zu prüfenden Harn in völlig reinem Gefässe einige Minuten bis Stunden an einem kühlen Orte stehen. Enthält der Harn nur Fette als kleine Oeltröpfchen, so lagert sich überhaupt kein Niederschlag ab, in allen anderen Fällen werden sich bald die Sedimente am Boden abgesetzt haben, so dass man den grössten Theil der Flüssigkeit klar abgiessen kann. Man nimmt dann von dem Reste der Flüssigkeit, welcher das Sediment enthält, mit einer kleinen Pipette (einer an einem Ende ausgezogenen und im verengten Theile abgeschnittenen Glasröhre) eine Probe heraus, bringt einen Tropfen auf den Objectträger, legt das Deckglas auf und untersucht bei 200 bis 300facher Vergrösserung mit dem Mikroskope. Farblose Krystalle können bestehen aus phosphorsaurer Magnesia-Ammoniak, phosphorsaurem Kalke, schwefelsaurem oder oxalsaurem Kalke, Cystin, Xanthin, Tyrosin, und zwar bilden schwefelsaurer Kalk und Tyrosin feine Nadeln, phosphorsaurer Kalk rhombische Prismen, Cystin sechsseitige oder rhombische, Xanthin sechsseitige Tafeln, oxalsaurer Kalk tetragonale Octaëder, phosphorsaure Magnesia-Ammoniak drei- oder vier- oder sechsseitige grosse Prismen mit schrägen Endflächen, oft sind sie den Octaëdern des oxalsauren Kalks ähnlich, wenn die Prismen kurz sind, meist erscheint dies Salz in der sogenannten Sargdeckelform (dreiseitigem Prisma, auf dessen einer Kante eine Fläche in gleicher Zone aufgesetzt ist und mit zwei gegen einander stark geneigten schrägen Endflächen). Farblose Kugeln und rundliche Knollen oder Dumbbells bestehen aus kohlensaurem oder oxalsaurem Kalke. Gelb oder roth oder braun gefärbte Krystalle in Harnsedimenten bestehen stets aus Harnsäure. Gelbe oder röthlich braune Kugeln, Knollen, Stechapfel- oder Morgensternformen bilden harnsaure Salze,

*) Valentiner, Med. Centralbl. 1863. S. 913.

doch ist ihre Färbung in alkalischen Harnen oft kaum bemerkbar. Feine hinsichtlich ihrer Form nicht bestimmbare Körnchen und Kügelchen bilden harnsaure Salze, phosphorsaurer Kalk, Xanthin.

Man lässt dann einen Tropfen starker Essigsäure zur Probe unter das Deckglas fliessen: Gelöst werden phosphorsaurer und kohlensaurer Kalk (letzterer meist mit erkennbarer Gasentwickelung), phosphorsaure Magnesia-Ammoniak; ungelöst bleiben schwefelsaurer und oxalsaurer Kalk, Cystin, Xanthin, Harnsäure. Harnsaure Salze werden unter vorausgehender theilweiser oder vollständiger Lösung durch die Essigsäure in Krystalle von Harnsäure verwandelt. Um über die Gegenwart von harnsauren Salzen in Sedimenten Sicherheit zu erhalten, lässt man die Probe mit 1 Tropfen Essigsäure mehrere Stunden stehen und prüft dann mit dem Mikroskope, ob sich gefärbte Krystalle abgeschieden haben.

Waren die Krystalle nicht gelöst durch Essigsäure, so lässt man zu einer dritten Probe einen Tropfen Salzsäure fliessen, ungelöst bleibt dann nur Harnsäure und schwefelsaurer Kalk.

Besteht das Sediment aus schwefelsaurem Kalk, so löst es sich in viel Wasser auf, aber auch Tyrosin, Xanthin, Harnsäure und harnsaure Salze, selbst phosphorsaure Magnesia-Ammoniak sind nicht völlig unlöslich in Wasser.

Durch einen Tropfen Aetzammoniak werden harnsaure Salze, oxalsaurer oder phosphorsaurer oder schwefelsaurer Kalk nicht verändert; Tyrosin, Cystin, Xanthin lösen sich leicht darin auf, Krystalle von freier Harnsäure werden allmälig oberflächlich arrodirt und mit Körnchen besetzt.

Enthält der Harn eine Trübung allein durch Fett in molecularer feinster Zertheilung, so wird er durch Schütteln mit Aether in einer Flasche klarer. Der Aether nach einiger Zeit abgegossen giebt beim Verdunsten eine fettige Masse, die in den wenigen bisher untersuchten Fällen aus den gewöhnlichen Fetten Oleïn, Palmitin, Stearin bestanden hat. Ein solcher fetthaltiger sogenannter chylöser Harn wird nur sehr selten beobachtet, er scheint in allen Fällen albuminhaltig gewesen zu sein.

Die harnsauren Salze unterscheiden sich von den meisten anderen erwähnten Bestandtheilen der Sedimente dadurch, dass sie sich beim Erwärmen mit dem Harne auf Bluttemperatur leicht auflösen, nur das Tyrosin löst sich auch und noch leichter in heissem Wasser, unterscheidet sich aber durch seine Krystallform. Nach

Heintz enthalten die harnsauren Salze als Sedimente im Harne Kalk oder Kali, wenn sie feinkörnig erscheinen*).

Calciumphosphat von der Zusammensetzung $CaHPO_4 + 2H_2O$ wird zuweilen als rhombische Tafeln in stark saurem Harne gefunden, wegen seiner Krystallform könnte er nur mit Harnsäure oder phosphorsaurer Magnesia-Ammoniak verwechselt werden. Die Löslichkeit in Säuren unterscheidet dies Salz von Harnsäure und sein Vorkommen im scharf sauren Harne lässt keine Verwechselung mit dem Ammoniak-Magnesia-Phosphat zu, da dies nur im alkalischen Harne erscheint.

Der gewöhnliche neutrale phosphorsaure Kalk kann im alkalischen, neutralen oder sehr schwach sauren Harne als Sediment auftreten, im alkalischen ist er stets als Sediment enthalten und im zersetzten Harne stets mit Magnesia-Ammoniak-Phosphat, oft auch mit harnsauren Salzen gemengt. Seine Unlöslichkeit in Ammoniak unterscheidet ihn von Xanthin, die Löslichkeit in Säuren ohne nachherige Ausscheidung von Krystallen sowie die Unlöslichkeit in warmem Wasser von harnsauren Salzen.

Der oxalsaure Kalk, in seinen ausgebildeten Krystallen nur mit phosphorsaurer Magnesia-Ammoniak zu verwechseln, unterscheidet sich von diesem Salze durch die Unlöslichkeit in Essigsäure. Wenn er in Kugeln und Dumbbells den harnsauren Salzen und kohlensaurem Kalke ähnlich erscheint, ist gleichfalls die Unveränderlichkeit in Essigsäure und Unlöslichkeit in warmem Wasser für dies Salz charakteristisch.

Der schwefelsaure Kalk, dem Tyrosin in der Krystallform ähnlich, unterscheidet sich durch die Schwerlöslichkeit in Ammoniak von diesem, sowie durch Feuerbeständigkeit.

Der kohlensaure Kalk ist hinreichend charakterisirt, wenn sich ein körnig kugeliges Sediment mit Aufbrausen in Säuren löst.

Phosphorsaure Magnesia-Ammoniak kommt nur im alkalischen Harne vor, ist stets gut krystallisirt, in Essigsäure leicht löslich und deshalb mit keinem anderen hier in Betracht kommenden Körper zu verwechseln. Die Krystalle sind nie, wie Hassall und Beale angeben, im icterischen Harne gefärbt, sie sind vielmehr stets farblos.

Ein Magnesiumphosphat von der Zusammensetzung $Mg_3(PO_4)_2 + 22H_2O$ wurde in alkalischem concentrirten Harne als cholesterinähnliche Tafeln gefunden. Zur Unterscheidung dieses Salzes, des Ammonium-

*) Bence-Jones, Chem. Centralblatt. 1862. S. 316. Heintz, ebendas. 1863. S. 524.

magnesiumphosphats und Calciumphosphats empfehlen Tollens und Stein*) eine Lösung von käuflichem Ammoniumcarbonat in 5 Theilen Wasser gelöst. Die Ammoniummagnesiumverbindung bleibt darin unverändert, die Magnesiumphosphatkrystalle werden rauh und zerfressen, Calciumphosphat verwandelt sich in Kügelchen, die am Glase haften.

Harnsäure bildet meist rhombische Tafeln; ihre gelbe bis braune Färbung, Unlöslichkeit in Salzsäure und in Ammoniak unterscheiden sie von allen anderen hier wichtigen Körpern.

Tyrosin in feinen Nadeln krystallisirt löst sich leicht in Ammoniak und giebt mit Millon's Reagens gekocht Rothfärbung.

Xanthin ist gleichfalls in Ammoniak löslich, schwerer in Salzsäure, noch schwerer in heissem Wasser.

Cystin, stets in den oben geschilderten Krystallen sich darstellend, ist unlöslich in heissem Wasser, leicht löslich in Ammoniak.

Diese drei Körper Tyrosin, Xanthin und Cystin geben Krystalle beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung. Die in dem dritten Abschnitt bei der Betrachtung der einzelnen Stoffe beschriebene Reaction, insbesondere die Murexidprobe für Harnsäure, die Probe mit Salpetersäure und Kalilauge für Xanthin, die Probe mit Kalilauge auf Silberblech für Cystin u. s. w. geben die weitere Bestätigung für die Erkennung der einzelnen Körper.

Enthalten die Sedimente mehrere Körper gemengt, deren Unterscheidung im Gemenge nicht mit Sicherheit gelingt, und ist genügendes Material vorhanden, so sammelt man eine Quantität davon durch Abgiessen oder Filtriren und trennt die einzelnen Bestandtheile zu ihrem Nachweise nach der im folgenden Paragraphen angegebenen Methode.

Qualitative Analyse der Harnsedimente und der Concretionen in den Harnwegen.

254. Eine kleine Probe der zu analysirenden Substanz erhitzt man zunächst auf Platinblech; zeigt sich keine Schwärzung, so kann die Analyse der Substanz nach den in § 203 u. 204 angegebenen Methoden der Untersuchung auf anorganische Stoffe ausgeführt werden. Verkohlt die Substanz, so fragt es sich, ob nach völligem Verbrennen der Kohle Asche zurückbleibt.

1) Eine grössere Portion des Sedimentes, Gries u. s. w. wird darauf in einem kleinen Mörser möglichst fein zerrieben, das Pulver

*) Liebig's Ann. Bd. 187. S. 79.

in kochendes Wasser gebracht, einige Zeit darin digerirt, dann heiss filtrirt und mit heissem Wasser der Rückstand ausgewaschen, das Filtrat in einer Porcellanschale auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen abgedampft, dann einige Stunden an kühlem Orte stehen gelassen.

Das Wasserextract kann enthalten: harnsaures Alkali, freie Harnsäure, etwas phosphorsaure Ammoniak-Magnesia, schwefelsauren Kalk, Tyrosin (letzteres ist nie in Gries oder Steinen, sondern nur äusserst selten als weiches Sediment gefunden) und alle diese Stoffe scheiden sich beim Abdampfen und Stehenlassen fast vollständig wieder aus.

Hat sich kein Niederschlag gebildet, so prüft man eine kleine Portion der Flüssigkeit auf Platinblech, ob sie überhaupt etwas aufgelöst enthält; zeigt sie dabei einen Verdampfungsrückstand, der beim weiteren Erhitzen verkohlt, so verfährt man mit derselben in gleicher Weise, als wenn sich Ausscheidungen gebildet haben. Man versetzt nämlich die Flüssigkeit (wenn sich Niederschläge gebildet haben, ohne zu filtriren) mit Salzsäure und lässt einige Stunden stehen*). Es scheidet sich beim ruhigen Stehen die durch Salzsäure freigemachte Harnsäure krystallisirt ab, während phosphorsaure Magnesia, Tyrosin gelöst werden. Die abgeschiedenen Krystalle untersucht man nach § 107 auf Harnsäure (Murexidprobe). Die davon abgegossene Flüssigkeit theilt man in zwei Theile, den einen versetzt man mit Platinchlorid und lässt einige Zeit stehen, den zweiten verdampft man im Wasserbade zur Trockne und extrahirt den Rückstand mit etwas Ammoniak, Tyrosin wird dadurch gelöst sowie Chlorkalium, Chlornatrium, während phosphorsaure Magnesia-Ammoniak und schwefelsaurer Kalk ungelöst bleiben. Man filtrirt, dampft das Filtrat zur Trockne ab und prüft den Rückstand nach § 148 auf Tyrosin (Piria's und Hoffmann's Probe) und im Spectralapparate auf Kalium und Natrium (vergl. § 18). Der etwa von Ammoniak nicht gelöste Rückstand wird mit etwas Salpetersäure gelöst und ein Theil der Lösung mit Chlorbarium auf Schwefelsäure und das Uebrige mit molybdänsaurem Ammoniak (vergl. § 54) auf Phosphorsäure untersucht.

Die erstere Portion obiger salzsaurer Lösung, welche mit Platinchlorid versetzt war, giebt entweder sogleich oder nach kurzem Stehen

*) Hier sowie in den unten angegebenen Fällen ist es zweckmässig, 24 Stunden stehen zu lassen, doch ist kürzere Zeit hinreichend, wenn es sich nicht um Spuren handelt.

einen gelben Niederschlag, wenn sie Ammoniak oder Kali enthält. Man filtrirt den entstandenen Niederschlag ab oder trennt ihn noch besser durch Abgiessen, wäscht ihn mit Alkohol aus, trocknet bei 100°, bringt ihn in ein trocknes Glaskölbchen und erhitzt über freier Flamme; enthält er Platinsalmiak, so bekommt man im Röhrchen ein mikrokrystallinisches Sublimat von Salmiak, welches sich mit der Flamme leicht an der Wandung des Röhrchens weiter aufwärts treiben lässt; das Sublimat erweist, dass das Wasserextract des Steines oder Harnsedimentes Ammoniaksalz enthält.

2) Die in 1. bei der Behandlung des Pulvers mit heissem Wasser ungelöst gebliebenen Substanzen werden in ein Becherglas gespült und mit verdünnter Salzsäure übergossen; Aufbrausen hierbei zeigt die Anwesenheit von Kohlensäure an. Man lässt kurze Zeit stehen, filtrirt und wäscht mit Wasser aus.

Die Lösung kann enthalten: Kalk, Magnesia, Eisen, Phosphorsäure, Oxalsäure, Ammoniak, Cystin, Spuren von Schleim und Albuminstoffe. Man theilt diese Flüssigkeiten in zwei ungleiche Theile.

3) Den kleineren Theil der in 2. erhaltenen salzsauren Lösung concentrirt man möglichst im Wasserbade, bringt die concentrirte Lösung in ein Probirglas, filtrirt, wenn die Flüssigkeit trübe ist, fügt zum klaren Filtrate ein paar Tropfen Platinchlorid und lässt einige Stunden stehen. Ist Ammoniak zugegen, so wird sich sogleich oder nach kurzem Stehen ein gelber krystallinischer Niederschlag von Ammoniumplatinchlorid gebildet haben, den man wie oben in 2. nach Waschen mit Alkohol und Trocknen im Glaskölbchen trocken erhitzt und auf Ammoniakgehalt prüft.

4) Den anderen grösseren Theil der in 2. erhaltenen salzsauren Lösung versetzt man mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction und lässt bedeckt kurze Zeit stehen. Ein entstandener Niederschlag kann enthalten Phosphorsäure, Oxalsäure, Magnesia, Kalk, Eisenoxyd, die Lösung dagegen kann enthalten Kalk, Magnesia, Cystin. Man filtrirt die Lösung schnell unter möglichstem Abschluss der atmosphärischen Kohlensäure, wäscht mit ausgekochtem Wasser und etwas Ammoniak aus.

5) Ein Theil der in 4. enthaltenen Lösung wird mit oxalsaurem Ammoniak auf Kalk (der im Harnsteine an Kohlensäure gebunden war) und nach Abfiltriren des oxalsauren Kalks mit Natriumphosphat auf Magnesia geprüft.

6) Der in 4. erhaltene Niederschlag wird mittelst der Spritz-

flasche mit Wasser in ein Becherglas gespült und Essigsäure im Ueberschuss hinzugefügt; löst sich ein Theil des Niederschlags nicht in Essigsäure, so kann derselbe aus phosphorsaurem Eisenoxyd oder oxalsaurem Kalke bestehen.

7) Der in Essigsäure unlösliche Theil des Niederschlags in 6. wird abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen, dann in ein Porcellantiegelchen gespült, im Wasserbade zur Trockne gebracht, der Rückstand geglüht und nach dem Erkalten mit Essigsäure übergossen. Löst er sich ganz oder theilweise in Essigsäure unter Aufbrausen und giebt die nöthigenfalls filtrirte essigsaure Lösung mit oxalsaurem Ammoniak einen weissen Niederschlag, so war im untersuchten Steine oder Sedimente oxalsaurer Kalk enthalten. Den durch Essigsäure nicht gelösten Glührückstand löst man in ein wenig Salzsäure, verdünnt mit Wasser und prüft mit Ferrocyankalium auf Eisenoxyd; entsteht ein blauer Niederschlag, so enthält der untersuchte Harnniederschlag phosphorsaures Eisenoxyd.

8) Die in 6. erhaltene essigsaure Lösung wird mit oxalsaurem Ammoniak auf Kalk geprüft, entsteht ein Niederschlag, so wird der Kalk durch weiteren Zusatz von oxalsaurem Ammoniak völlig ausgefällt, die Flüssigkeit mit dem Niederschlage erwärmt, filtrirt, das Filtrat mit Ammoniak wieder alkalisch gemacht einige Stunden stehen gelassen. Hat sich ein Niederschlag bei Zusatz des oxalsauren Ammoniak gebildet, so enthielt der Harnstein phosphorsauren Kalk, war nach dem Abfiltriren des Kalkniederschlags beim Zusatz des Ammoniak ein krystallinischer Niederschlag entstanden, so ist dadurch phosphorsaure Magnesia in dem untersuchten Harnsteine, Gries u. s. w. nachgewiesen.

9) Die in 2. von Salzsäure nicht gelösten Stoffe können nur Harnsäure, Xanthin, Schleim, Kieselsäure und Detritus von organisirten Körpern als z. B. Epithelzellen und andere zufällige Einschlüsse der Harnsteine sein. Harnsäure und Xanthin werden durch Aetzammoniak von einander getrennt, das Ungelöste prüft man mit Murexidprobe auf Harnsäure, die ammoniakalische Lösung verdunstet man und prüft den Rückstand nach § 104 auf Xanthin. Beim Veraschen des durch Ammoniak nicht gelösten Rückstandes erhält man die Kieselsäure.

Ist das in 1. dargestellte Wasserextract reich an Harnsäure, so enthält das untersuchte Sediment, Gries oder Stein viel harnsaures Alkalisalz. Die freie Harnsäure löst sich viel schwerer in heissem Wasser als ihre Alkalisalze. Der Kalk

des Salzsäureextractes in 6. ist im Steine als kohlensaures Salz enthalten, die in 9. erhaltenen Niederschläge geben das Vorhandensein von phosphorsauren Erden an, ohne dass dabei entschieden würde, ob die Magnesia als phosphorsaure Magnesia-Ammoniak oder blos als phosphorsaure Magnesia im Steine enthalten ist; hat sich aber in 4. Ammoniak gefunden, so kann man annehmen, dass das Ammoniak-Magnesiadoppelsalz im untersuchten Steine enthalten ist.

Kleine Concretionen in der Substanz der Niere, besonders in den Spitzen der Pyramiden, in den kleinen Gefässen und disseminirt in den Schleimhäuten u. s. w. werden mikroskopisch (vergl. vorigen Paragraphen) auf ihr Verhalten gegen Essigsäure, Salzsäure, Aetznatron, Ammoniak, schwache Jodlösung und Schwefelsäure nebst Jodlösung geprüft. Die in den Spitzen der Pyramiden so häufigen Infarcte phosphorsaurer Erden lösen sich in Essigsäure sehr langsam, viel schneller in Salzsäure unter Hinterlassung von etwas meist unregelmässig geformter organischer Substanz. Harnsaure Salze scheinen sich in Säuren zunächst meist völlig zu lösen, geben aber dann beim Stehen Krystalle von Harnsäure (Bestätigung durch Murexidprobe, Löslichkeit in Natron, Unlöslichkeit in Ammoniak); phosphorsaure Erden lösen sich nicht in Natron oder Ammoniak, dagegen lösen sich abgelagerte Farbstoffe in diesen Flüssigkeiten.

Quantitative Bestimmung der einzelnen in Harnsedimenten und Concretionen enthaltenen Bestandtheile.

255. 1) Von dem möglichst fein pulverisirten Steine, Gries etc. wägt man, wenn hinlängliches Material zu Gebote steht, 1—2 Grm. ab, trocknet dasselbe zunächst bei 100° im Luftbade oder besser nach der Methode, welche Neubauer zum Trocknen der Harnrückstände angegeben hat (vergl. § 221), weil beim Trocknen des Steinpulvers aus etwa vorhandenen Magnesia-Ammoniak-Phosphaten Ammoniak entweichen kann. Nach dem Trocknen wägt man wieder.

Die Analyse wird dann im Ganzen nach demselben Gange, der im vorigen Paragraphen beschrieben ist, ausgeführt, nur sind Kohlensäure- und Ammoniak-Bestimmung mit besonderen Portionen des Steinpulvers auszuführen.

Die quantitative Analyse dieser Concretionen würde sehr mühsam sein, wenn wirklich alle verschiedenen Stoffe, auf welche im vorigen Paragraphen Rücksicht genommen ist, neben einander in einem Concremente jemals vorkämen, dies scheint aber nie der Fall zu sein und die Analyse vereinfacht sich daher bedeutend. Schwefelsaurer Kalk, Tyrosin, Xanthin, Cystin kommen in Sedimenten und Steinen so selten vor und gewöhnlich so frei von anderen Beimengungen, dass auf ihre Bestimmung im Folgenden nicht Rücksicht zu nehmen war.

2) Das in 1. erhaltene getrocknete Pulver wird in heisses Wasser eingetragen, einige Zeit im Kochen erhalten, heiss filtrirt und mit

heissem Wasser gut ausgewaschen. Das Filtrat wird in einer Porcellanschale im Wasserbade concentrirt, dann mit Salzsäure stark sauer gemacht und nach 12stündigem Stehen die ausgeschiedene Harnsäure auf gewogenem Filter gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen, Filter und Harnsäure bei 120° getrocknet und nach Erkalten über Schwefelsäure gewogen. Die von der Harnsäure abfiltrirte Flüssigkeit wird abermals durch Abdampfen sehr concentrirt, in ein Becherglas gebracht, mit Aetzammoniak stark alkalisch gemacht und nach einigen Stunden Stehen die phosphorsaure Ammoniak-Magnesia auf einem kleinen Filter gesammelt, mit verdünntem Aetzammoniak gewaschen, getrocknet, geglüht, gewogen; vergl. Aschenanalyse §§ 207 und 210. Die abfiltrirte Flüssigkeit wird in einer Schale concentrirt, dann in ein gewogenes Tiegelchen gebracht, völlig zur Trockne verdunstet, geglüht bis zur völligen Verjagung des Chlorammonium, nach dem Erkalten gewogen.

3) Die von kochendem Wasser nicht gelösten Bestandtheile des Steins werden im Becherglase mit verdünnter Salzsäure behandelt und 12 Stunden stehen gelassen. Die ausgeschiedene Harnsäure wird auf gewogenem Filter gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen, bei 120° getrocknet, nach dem Erkalten über Schwefelsäure gewogen, dann verascht und nach dem Erkalten die Asche gewogen.

4) Die Analyse der salzsauren Lösung, welche in 3. erhalten wird, führt man auf dieselbe Weise aus, wie es in den §§ 205 und 210—216 beschrieben ist. Oxalsauren Kalk und phosphorsaures Eisenoxyd wägt man nach dem Glühen als kohlensauren Kalk + phosphorsaures Eisenoxyd und es ist dabei nöthig durch etwas kohlensaures Ammoniak die beim Glühen ausgetriebene Kohlensäure zu restituiren, nochmals zum schwachen Rothglühen zu erhitzen, dann erkalten zu lassen und zu wägen. Man löst dann den kohlensauren Kalk in Essigsäure, filtrirt durch ein kleines Filter, wäscht mit etwas Wasser aus, trocknet und glüht das Filter mit dem phosphorsauren Eisenoxyd und wägt den Glührückstand nach dem Erkalten. Ist kein Eisenoxydsalz zugegen, so kann man den auf gewogenem Filter gesammelten oxalsauren Kalk direct nach dem Trocknen bei 100° und Erkalten über Schwefelsäure wägen.

5) In einer besonderen Portion des Concrementes bestimmt man den Kohlensäuregehalt nach der in § 216 beschriebenen Methode.

6) Zur Bestimmung des Ammoniak wägt man eine dritte Portion des lufttrocknen Steinpulvers ab, wenn seine Betheiligung an der

Zusammensetzung des Steins durch die qualitative Analyse ermittelt ist, löst die gewogene Quantität in nicht zu viel verdünnter Salzsäure, lässt, wenn Harnsäure zugegen ist, 12 Stunden stehen, filtrirt, versetzt das Filtrat mit Alkohol, fällt mit Platinchlorid, lässt wieder etwa 12 Stunden bedeckt stehen, sammelt den ausgeschiedenen Niederschlag auf einem kleinen gewogenen Filter, wäscht mit Alkohol aus, trocknet Filter und Niederschlag bei 100° und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Hatte das untersuchte Harnsediment oder der Blasenstein Kaligehalt neben Ammoniak bei der qualitativen Untersuchung ergeben, so ist eine vierte Portion des Steinpulvers durch Glühen von organischen Stoffen und Ammoniaksalzen zu befreien, die noch kohlehaltende Asche in etwas verdünnter Salzsäure zu lösen, zu filtriren, auszuwaschen und in dem Filtrate nach seinem Verdampfen auf ein kleines Volumen die Fällung des Kali durch Platinchlorid, Sammeln des Platinniederschlags auf kleinem Filter, Waschen mit Alkohol u. s. w. vorzunehmen, so wie es oben für die Fällung des Ammoniak angegeben ist. Das Gewicht des Kaliumplatinchlorid von dem Gewicht des Ammonium- + Kaliumplatinchlorid subtrahirt, giebt dann das Ammoniumplatinchlorid, dessen Ammoniakgehalt die Tabelle II. im Anhange ergiebt.

II. Untersuchung seröser Flüssigkeiten als Blutserum, Transsudate, Cystenflüssigkeiten, Synovia u. s. w.

Allgemeines.

256. Das Blutplasma, Serum und die verschiedenen Transsudate, welche aus dem Blutplasma durch Filtration hervorgegangen, wegen verschiedener Beimischungen durch die Zellenthätigkeit der Organe, in denen sie sich befinden, sowie durch Blutbeimengung und die Veränderungen, welche sie selbst auch ohne jede Beimengung mit der Zeit erfahren, manche Verschiedenheit in der Zusammensetzung zeigen können, bieten im Allgemeinen trotz aller dieser secundären die Transsudate treffenden Einflüsse eine solche Uebereinstimmung in der Zusammensetzung und in den Momenten, welche bestimmend auf die analytischen Methoden einwirken, dass sie hinsichtlich des Ganges der chemischen Untersuchungen keine gesonderte Betrachtung erfordern.

Alle diese Flüssigkeiten enthalten Albumin, und es ist keine

hierher gehörige Flüssigkeit bekannt (vielleicht mit Ausnahme der Flüssigkeiten in der Arachnoïdea und den Hirnventrikeln), welche nicht wenigstens zwei verschiedene Albuminstoffe in sich vereinigte. Während sie qualitativ in diesem Gesichtspunkte übereinstimmen, zeigen sich bedeutende Unterschiede hinsichtlich des Gehaltes an Albuminstoffen, da der letztere von 8 pCt. bis unter 0,1 pCt. variirt.

Die Reaction dieser Flüssigkeiten ist mit seltenen Ausnahmen eine schwach alkalische, die Consistenz meist eine dünnflüssige; oft bildet sich jedoch durch Fibrinabscheidung gallertige lockere oder festere Gerinnung, auch kann durch einen Gehalt an Mucin oder Metalbumin eine sehr zähe Consistenz bewirkt werden, so dass die Flüssigkeit beim Ausgiessen lange Fäden zieht.

Die Flüssigkeiten, welche hierher gehören, sind häufig ganz klar durchsichtig, zeigen aber fast stets sehr deutliche weissliche Fluorescenz und werden oft durch Beimengung von Blutkörperchen oder deren Umwandelungsproducte oder durch zellige Elemente wie Eiterkörperchen, Epithelzellen, Fibrinausscheidungen, Cholesterinkrystalle, moleculare Fettbeimengung (im Blutserum während der Digestion, im Diabetes und bei Säufern, selten in Transsudaten) getrübt. Alle derartige Trübungen und Niederschläge mit Ausnahme des molecularen Fetts, einer molecularen Ausscheidung eines Eiweisskörpers, die zuweilen vorkommt, und der Blutkörperchen lassen sich durch Filtration durch Papier entfernen. Abgesehen von defibrinirtem Blute selbst kann man in allen Fällen die Blutkörperchen durch Stehenlassen einen Tag lang und nachheriges Abgiessen von der Flüssigkeit trennen, im defibrinirten Blute gelingt dies oft nur sehr schwer und mangelhaft; Trübung durch moleculares Fett wird durch Schütteln mit Aether wenigstens grösstentheils entfernt, indem sich das Fett im Aether löst; die Klärung gelingt in allen Fällen vollkommen, wenn man mit Aetznatron versetzt, nun mit Aether schüttelt und dann stehen lässt, doch verändert das Natron dabei die Albuminstoffe.

Die Farbe des Blutserum, der Transsudate und Cystenflüssigkeiten ist in allen Fällen, wenn kein Blut beigemengt ist, ein blasseres oder gesättigteres Gelb oder gelbliches Grün: beim Stehen an der Luft trüben sich diese Flüssigkeiten nach einiger Zeit und ihre Farbe wird dabei mehr bläulich; viele Hydroceleflüssigkeiten haben meist von vorn herein eine dunklere grünliche Färbung.

Das spec. Gewicht der hierher gehörigen Flüssigkeiten variirt

zwischen 1,030 und 1,005 ungefähr. Man prüft das spec. Gewicht dieser Flüssigkeiten, wenn sie dünnflüssig genug sind und hinreichende Quantität zu Gebote steht, mit dem Aräometer. Für diese Untersuchungen gelten die § 14 angegebenen Regeln.

Untersuchung der Albuminstoffe in serösen Flüssigkeiten.

257. Enthält die zu untersuchende Flüssigkeit Trübung oder Niederschlag von Fetzen, Flocken u. dergl., so ist sie zunächst mikroskopisch zu prüfen und zu filtriren. Im Niederschlag enthaltene Flocken und Fetzen können nach Schlämmen und Waschen mit Wasser gereinigt und auf Fibrin untersucht werden. Glasiges Aufquellen ohne Lösung in Wasser mit 0,1 pCt. HCl, dann Lösung in wenigen Minuten nach Zusatz von etwas künstlichem Magensaft und anhaltendes Umschütteln ist dem Fibrin eigen.

I. Ist die klar filtrirte Flüssigkeit von schleimiger Consistenz und zieht Fäden beim Austropfen aus einem Gefäss ins andere (Ovarialcystenflüssigkeiten, Synovia-, Ranulainhalt), so ist auf Anwesenheit von Mucin oder Metalbumin zu schliessen.

1) Man versetzt dann eine Probe derselben, nöthigenfalls nach Verdünnen mit Wasser, mit etwas Essigsäure; entsteht hierdurch ein Niederschlag, der durch weiteren Essigsäurezusatz nicht gelöst wird, sondern sich fester zusammenballt, so ist Mucin vorhanden. Das durch Essigsäure abgeschiedene Mucin wird abfiltrirt, mit etwas Essigsäure enthaltendem Wasser gewaschen und nach § 180 die Identität mit Mucin constatirt.

2) Eine andere Probe der Flüssigkeit wird mit dem 3fachen Volumen Alkohol gemischt, 24 Stunden stehen gelassen, dann abfiltrirt, der Niederschlag ausgepresst und in Wasser gut zertheilt, dann filtrirt. Ist Metalbumin zugegen, so geht dies in die wässrige Lösung über und wird aus seinem § 193 beschriebenen Verhalten erkannt.

II. Einen nicht zu kleinen Theil der filtrirten serösen Flüssigkeit sättigt man bei 30° vollständig mit pulverisirter krystallisirter schwefelsaurer Magnesia, filtrirt, wäscht den Niederschlag mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung aus und untersucht sowohl das Filtrat als auch den Niederschlag.

A. Filtrat.

1) Ein Theil des Filtrats wird zum Sieden erhitzt. Flockige Coagulation zeigt das Vorhandensein von Serumalbumin oder Eieralbumin an.

2) In einem andern Theile des Filtrats wird die spec. Drehung

bestimmt (vergl. oben S. 24 bis S. 43) und hierdurch, sowie durch weitere Vergleichung der in § 173 und § 174 angegebenen Eigenschaften ermittelt, ob Serumalbumin oder Eieralbumin zugegen sind.

Mucin sowie Metalbumin gehen in das Filtrat über, wenn sie in der serösen Flüssigkeit enthalten sind. Mucin kann vor der Behandlung mit Magnesiumsulfat durch mässigen Essigsäurezusatz ausgefällt, die Flüssigkeit dann möglichst genau mit Natriumcarbonat neutralisirt, darauf mit Magnesiumsulfat gefällt und im Filtrate nach den Albuminen gesucht werden. Metalbumin ist nicht von den unzersetzten Albuminen abtrennbar. Zur Untersuchung auf Pepton verfährt man nach der Methode der Darstellung, die in § 188 ausführlich beschrieben ist.

B. Der Magnesiumsulfatniederschlag wird ausgepresst zwischen Filtrirpapier, dann in nicht viel Wasser gelöst.

1) Ein Theil dieser Lösung wird im engen Probirrohr im Wasserbade mit eingesetztem Thermometer langsam erhitzt, wenn flockige Gerinnung erfolgt ist, filtrirt und das Filtrat in gleicher Weise höher erhitzt, bis wieder flockige Gerinnung eingetreten ist, abermals filtrirt weiter erhitzt u. s. w.

Muskelalbumin gerinnt bei 45—48°, Myosin und Fibrinogen bei 55—58°, Serumglobulin über 70° flockig, Vitellin bei noch höherer Temperatur, Casein und Albuminat selbst beim Sieden nicht; Casein beim Erhitzen im zugeschmolzenen Rohr auf 120°.

2) Ein anderer Theil der Lösung ebenso wie ein Theil der ursprünglichen serösen Flüssigkeit werden mit etwas frischgelassenem, vom ausgeschiedenen Fibringerinnsel abgepressten Blut versetzt und einige bis 24 Stunden bei 20—30° stehen gelassen. Tritt Gerinnung der ganzen Flüssigkeit oder Abscheidung gallertiger Flocken ein von den Eigenschaften des Fibrin (vergl. § 179), so enthielt die Flüssigkeit Fibrinogen.

3) Ein Theil der Lösung wird durch Dialyse (vergl. S. 10) vom grössten Theil des Magnesiumsulfats befreit, der abgeschiedene flockige Niederschlag durch ein wenig Chlornatriumlösung gelöst, dann ein Stück klares Steinsalz so in die Lösung gesetzt, dass es über das Flüssigkeitsniveau hervorragt. Fibrinogen, Myosin, Serumglobulin werden bei der Sättigung der Lösung gefällt, Vitellin wird nicht gefällt und giebt Coagulation beim Kochen der Lösung (Serumglobulin wird durch Chlornatrium bei Gegenwart von Albuminen oder Vitellin nicht vollständig gefällt).

4) Endlich wird ein Theil der Lösung, der nicht viel Magnesium-

sulfat enthalten darf (nöthigenfalls also nach vorausgegangener Entfernung desselben durch Dialyse), mit Essigsäure stark angesäuert. Entsteht Niederschlag, der sich nach weiterem Essigsäurezusatz nicht leicht löst, so ist Casein oder Albuminat vorhanden. Man unterscheidet sie von einander durch die Einwirkung von Lab in ziemlich neutraler Lösung (vergl. § 187).

Die Farbstoffe in serösen Flüssigkeiten.

258. Die gelbe Farbe des Blutserum und der meisten serösen Flüssigkeiten scheint stets durch einen in Fetten besonders leicht löslichen, durch Alkalien nicht zersetzbaren Stoff hervorgerufen zu werden, der wohl mit dem Lutein identisch ist, vergl. § 167. Pathologisch können Gallenfarbstoffe, Hämoglobin und Hämatin in serösen Flüssigkeiten auftreten. Das Blutplasma vom Pferde enthält nach Hammarsten Gallenfarbstoff auch im normalen Zustande. Ohne Rücksicht auf die Albuminstoffe untersucht man seröse Flüssigkeiten auf Gallenfarbstoff mit Salpetersäure nach den § 165 angegebenen Methoden. Die Untersuchung auf Hämoglobin und Hämatin ist in § 160 und § 191 ausführlich beschrieben.

Die Ursache der Grünfärbung, welche seröse Transsudate und das Blutserum beim Stehen an der Luft annehmen, ist noch nicht ermittelt.

Die anorganischen Salze, Fette und Extractivstoffe der serösen Flüssigkeiten.

Da die serösen Flüssigkeiten stets eiweisshaltig sind, so ist zur Untersuchung der in ihnen enthaltenen anorganischen Salze die Veraschung unvermeidlich, und es gelten daher die in dem Capitel über die Aschen § 201 bis § 216 gegebenen Methoden und Regeln.

Besondere Beachtung verdient hierbei der Schwefel- und Phosphorsäuregehalt organischer Verbindungen (Albuminstoffe, Taurocholsäure, Lecithin, Nuclein u. s. w.). In serösen Flüssigkeiten ist Lecithin wohl stets neben mehr oder weniger von Eiweisskörpern enthalten; directe Veraschung derselben ohne vorherige Abscheidung der Eiweissstoffe und des Lecithin würde eine Asche ergeben, in welcher der Schwefelgehalt der ersteren theilweise als schwefelsaures Salz und der Phosphorsäuregehalt des Lecithin als phosphorsaures Salz enthalten sein würde. Schwefelsäure sowie Phosphorsäure würden andere Säuren, besonders CO_2 aus ihrer Verbindung während des Glühens austreiben. Zu einer genaueren Untersuchung der in diesen Flüssig-

keiten vorhandenen anorganischen Stoffe ist es am zweckmässigsten, die Flüssigkeiten mit überschüssigem Alkohol zu fällen, durch aschefreies Filter zu filtriren, den Niederschlag erst mit Alkohol, dann mit Wasser heiss auszuwaschen, die alkoholischen Filtrate bei mässiger Wärme auf dem Wasserbade zu verdunsten, den Rückstand mit warmem absoluten Alkohol zu extrahiren und nach dem Verdunsten des filtrirten Extractes das Lecithin in Aether aufzunehmen, der, wenn er wasser- und alkoholfrei ist, anorganische Salze nicht auflöst. Es werden dann die in Aether nicht gelösten Substanzen des Alkoholauszugs zusammen mit den in Wasser gelösten Stoffen getrocknet, verkohlt und schliesslich, nach Extraction der Kohle mit heissem Wasser, verascht. Das Eiweiss auf dem Filter wird besonders verascht und die hierbei erhaltenen Phosphate von Calcium, Magnesium und vielleicht auch Eisen gesondert untersucht.

Eine directe Fällung in der eiweisshaltigen Flüssigkeit von Calcium, Phosphorsäure u. s. w. durch Ammoniak, Ammoniumoxalat u. s. w., wie sie Pribram*) und Andere ausgeführt haben, ist durchaus zu widerrathen, weil man weder der völligen Ausfällung sicher ist noch ein Mitniederreissen von Lecithin unbedingt vermeiden kann; man erhält durchaus unreine Niederschläge. Am Wenigsten ist es zulässig, Blut direct zu veraschen, man findet in solcher fehlerhaft bereiteten Asche, wie es sich oft ereignet hat, gar keine kohlensauren Salze mehr, weil die CO_2 von der Phosphorsäure des Lecithin völlig ausgetrieben wird.

Für den Nachweis und die Untersuchung der Fette, sowohl der in molecularer Zertheilung suspendirten als auch der in den Flüssigkeiten gelösten, sind in den §§ 84 und 85 ausführlich die Methoden beschrieben, die hier Anwendung finden können.

Untersuchung auf Zucker. Zur Untersuchung seröser Flüssigkeiten auf Traubenzucker pflegt man zunächst durch Kochen einer Portion der Flüssigkeit mit einem oder ein paar Tropfen verdünnter Essigsäure, nöthigenfalls nach Verdünnung mit Wasser die Eiweissstoffe zu coaguliren, zu filtriren und das Filtrat nach der Trommer-schen oder Boettcher'schen Methode auf Zucker zu prüfen. Selten sind diese Flüssigkeiten so reich an Zucker, dass das Filtrat nach Ausfällung der Eiweissstoffe rechtsseitige Circumpolarisation zeigt.

---

*) Pribram, Ber. d. sächs. Gesellsch. d. Wiss. 1. Juli 1871. L. Gerlach, ebendas 12. Decbr. 1872. Fokker, Arch. f. d. ges. Phys. Bd. 7. S. 274.

Will man durch diese den Zucker nachweisen, so ist es am Besten, eine grössere Quantität der Flüssigkeit durch Kochen unter Zusatz von einigen Tropfen Essigsäure zu coaguliren, zu filtriren (nöthigenfalls nach Entfärbung mit Thierkohle), nach abermaligem Eindampfen auf ein kleines Volumen im Polarisationsapparate zu prüfen. Hinsichtlich dieser Untersuchungen vergl. § 19—25. Hat man die Quantität der Flüssigkeit abgemessen, so kann man dann ebenso, wie es für den Harn geschildert ist, die Quantität des enthaltenen Zuckers bestimmen (vergl. § 247), indem man entweder den Traubenzucker mit Bleiessig und Ammoniak fällt und durch Schwefelwasserstoff diese Verbindung zerlegt oder direct die alkoholische auf ein kleines Volumen abgedampfte Lösung abmisst, ihre Drehung bestimmt u. s. w.

Man kann endlich nach Entfernung des Alkohols aus dieser Lösung durch Abdampfen den Zucker durch Titrirung mit Fehling-scher Lösung bestimmen, wenn man den Rückstand in hinreichend viel Wasser gelöst misst, in eine Bürette bringt und etwa 2—5 CC. der Fehling'schen Lösung damit nach § 248 titrirt. Nur bei Diabetes findet sich in diesen Flüssigkeiten mehr als 0,25 pCt. Traubenzucker.

Untersuchung auf Harnstoff. Eine allen Anforderungen genügende Methode zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Harnstoff in Blut und serösen Flüssigkeiten ist noch nicht gefunden, so viele Versuche auch nach dieser Richtung gemacht sind. Am Meisten zu empfehlen ist das auf Seite 140 in § 99 ausführlich beschriebene Verfahren.

Eine andere Methode zur Bestimmung des Harnstoffs im Blute hat Gréhant*) angewendet. Er lässt ungefähr 25 CC. Blut aus der Ader, fällt dies mit Alkohol, wäscht das Coagulum mit Alkohol aus, verdunstet den filtrirten Auszug im Luftbade, löst den Rückstand in Wasser, saugt diese Lösung in das Vacuum der Quecksilberluftpumpe, lässt Millon'sche Lösung in genügender Quantität hinzutreten, erwärmt den Recipienten im Wasserbade, führt dann die entwickelten Gase mittelst der Pumpe in ein Absorptionsrohr über, bestimmt ihr Volumen und die darin vorhandenen Mengen CO_2, Stickoxyd und Stickstoff, indem er die CO_2 durch Kalilauge, das Stickoxyd durch Eisenvitriol und Wasser absorbirt und das rückständige Stickstoffgas misst.

Die sämmtlichen Bestimmungen des Harnstoffs mit der Millon-

*) Journ. de l'anat. et de la physiol. 1870. S. 318. Compt. rend. T. 75. S. 143.

schen Quecksilberlösung können sichere Resultate nicht wohl geben, vergl. § 230.

Spuren von Harnstoff finden sich in diesen Flüssigkeiten im normalen Zustande, reichlicher ist er in ihnen bei Urämie enthalten.

Um Leucin und Tyrosin in serösen Flüssigkeiten aufzusuchen, sind dieselben möglichst frisch in Arbeit zu nehmen, die Eiweissstoffe durch Kochen der mit Essigsäure angesäuerten und nöthigenfalls mit Wasser passend verdünnten Flüssigkeit (oder durch Erhitzen auf dem Wasserbade mit dem 3—4 fachen Volumen Alkohol und vollständiges Erkalten vor dem Filtriren) abzuscheiden, das Filtrat (bei Anwendung von Alkohol ist derselbe nach der Filtration durch Abdampfen zu entfernen) mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetat mit sorgfältiger Vermeidung eines Ueberschusses dieser Bleisalze zu fällen und weiter nach den Vorschriften von Hlasiwetz und Habermann zu verarbeiten (vergl. § 116 und § 148. S. 219).

Zur Aufsuchung aromatischer Oxysäuren sind nach Entfernung der Eiweissstoffe in der oben beschriebenen Weise die in § 146 Seite 216 von Baumann gegebenen Vorschriften massgebend.

Kreatin und Kreatinin kann man nach der § 120 u. § 121 angegebenen Methode aus den serösen Flüssigkeiten isoliren. Das Kreatin erhält man krystallisirt; ist Kreatinin daneben vorhanden, so kann es durch neutrale Chlorzinklösung aus der vom Kreatin abgegossenen Mutterlauge nach den Vorschriften Neubauer's nach § 241 als Chlorzinkkreatinin gefällt werden, doch scheint es vortheilhafter, zunächst nach dem Auskrystallisiren des Kreatin (wenn dies überhaupt erfolgt) die Flüssigkeit mit verdünnter Schwefelsäure zu kochen, nach Hofmeister mit Phosphorwolframsäure das Kreatinin nach dem Erkalten zu fällen und darzustellen. Aus dieser Verbindung isolirt man das Kreatinin nach § 121. Wahrscheinlich enthalten die serösen Flüssigkeiten stets nur Kreatin und dieses hat sich reichlich besonders im Typhus gefunden.

Harnsäure lässt sich zuweilen in geringen Mengen im Blutserum und grösseren Transsudaten bei Arthritis und anderen Affectionen nachweisen. Zu ihrem Nachweis coagulirt man durch Kochen die Albuminstoffe, filtrirt durch ein leinenes Tuch, dampft das Filtrat zur Trockne ein, kocht den Rückstand mehrmals mit Wasser aus und filtrirt heiss. Die vereinigten Filtrate werden auf ein sehr kleines Volumen verdunstet und dann mit starker Essigsäure versetzt einige Tage stehen gelassen. Ist Harnsäure vorhanden, so scheidet sie sich

in Krystallen aus, die nach § 107 (Krystallform, Murexidprobe u. s. w.) weiter untersucht werden, ebendaselbst ist ein besonderes Verfahren von Meissner zur Aufsuchung der Harnsäure beschrieben.

Um Gallensäure in serösen Flüssigkeiten aufzusuchen, kann man nach vorheriger Coagulation der Eiweissstoffe durch Kochen oder durch Alkohol ganz in derselben Weise verfahren, wie es bezüglich dieser Aufgabe für den Harn in § 250 geschildert ist.

Fette Säuren, Milchsäure, Bernsteinsäure sucht man nach den in den §§ 71, 72, 78, 80 bei der Beschreibung dieser Körper und ihrer Darstellungsmethoden gegebenen Vorschriften auf. Cholesterin und Lecithin werden nach den in § 263 gegebenen Vorschriften im Aetherauszuge nachgewiesen.

Untersuchung auf Ammoniak in serösen Flüssigkeiten nach E. Salkowski*).

259. Zu 20 Grm. gepulverten Kochsalz in einem Kolben bringt man 50 CC. Blut oder seröse Flüssigkeit und 100 CC. einer Mischung von 7 Vol. gesättigter Chlornatriumlösung und 1 Vol. Essigsäure (von 1,040 spec. Gewicht und 30 Gewichtsprocente trockne Essigsäure enthaltend) mischt sorgfältig durch Umschütteln, lässt 15—20 Minuten stehen, misst das Gesammtvolumen der Mischung, filtrirt durch trocknes Filter. Das Filtrat soll ganz frei von Eiweissstoffen sein. Es werden 50—100 CC. von demselben abgemessen, mit Kalkmilch übersättigt und nach der Methode von Schlösing der Ammoniakgehalt bestimmt (vergl. § 223).

Auch das von Schmiedeberg für den Harn benutzte Verfahren (vergl. § 223) kann für die Untersuchung in serösen Flüssigkeiten wahrscheinlich gute Verwendung finden.

Bestimmung des Gehaltes an festen Stoffen und Wasser in serösen Flüssigkeiten.

260. In ein kleines Porcellanschälchen, welches nebst einem Uhrglase als Deckel dazu gewogen ist, lässt man aus einer Bürette 10—30 CC. der zu untersuchenden Flüssigkeit genau abgemessen einfliessen (oder man wägt die Portion im Schälchen ohne zu messen) und verdampft auf dem Wasserbade zur Trockne. Wenn keine Wasserabgabe mehr zu bemerken ist, erhält man den Rückstand einige

*) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1880. No. 38.

Stunden, nöthigenfalls ein paar Tage auf 100° oder (noch besser) man bringt es einige Tage in das Vacuum über Schwefelsäure. Sobald der Rückstand hier möglichst getrocknet ist, erhitzt man im Luftbade auf 110—120°, lässt über Schwefelsäure erkalten und wägt; erhitzt dann nochmals auf fast 120° und wägt nach dem Erkalten und wiederholt diese Procedur so lange, bis die letzte Wägung in ihrem Resultate mit der vorletzten übereinstimmt. Die Wägung ergiebt das Gewicht der festen Stoffe für die abgemessene Quantität Flüssigkeit und man berechnet nach diesem Resultat den Gehalt für 100 CC. der untersuchten Flüssigkeit. Vermuthet man im Transsudate u. s. w. Harnstoff oder andere leicht in der Hitze zersetzliche Substanzen, so trocknet man bei einer 110° nicht viel übersteigenden Temperatur, aber um so anhaltender. Will man in dem so erhaltenen Rückstande die Extractivstoffe oder Salze noch bestimmen, so verfährt man nach § 263.

Bestimmung des Gehaltes an Albuminstoffen in serösen Flüssigkeiten.

261. In serösen Flüssigkeiten finden sich mit wenig noch zweifelhaften Ausnahmen stets mehrere durch Kochen coagulirbare Albuminstoffe neben einander; Propepton sowie Pepton sind selten und dann nur in Spuren in ihnen gefunden. Das summarische Gewicht der beim Kochen gerinnenden Albuminstoffe kann man nach § 262 oder neben den übrigen Bestandtheilen derselben nach § 263 bestimmen, für die getrennte Bestimmung der Albumine neben den Globulinen sind die bei der Schilderung der einzelnen Albuminkörper oben angegebenen Trennungsmethoden in Anwendung zu ziehen. In bei Weitem den meisten serösen Flüssigkeiten findet sich neben Serumalbumin nur Serumglobulin, in manchen Transsudaten, z. B. Hydroceleflüssigkeit, auch Fibrinogen. Genaue Bestimmung dieser letztgenannten Substanz ist noch nicht ausführbar, doch erhält man Näherungswerthe, wenn man eine abgemessene, nicht zu kleine Portion der Flüssigkeit, 40—100 CC., mit nicht zu geringer Menge des aus frisch geronnenem Blute ausgepressten, durch Leinwand filtrirten Serum versetzt (ein mässiger Gehalt des letzteren an rothen Blutkörperchen bringt keinen bemerkbaren Nachtheil), 24 Stunden bei 20—30° stehen lässt, dann das gebildete Fibrin schlägt, auf einem gewogenen Filter sammelt, zuerst mit 1 procentiger Chlornatriumlösung, dann mit Wasser, endlich mit heissem Alkohol wäscht, bei 120° trocknet und wägt. Das Gewicht des gebildeten Fibrins kann man als ungefähren Ausdruck des Gewichts vom Fibrinogen in der unter-

suchten Flüssigkeit gelten lassen. Will man den Zweifel ausschliessen, ob auch das ganze Fibrinogen bei diesem Versuche zur Gerinnung gebracht sei, so stelle man zwei solche Bestimmungen an und setze vom frisch ausgepressten Serum zur einen Portion des Transsudats doppelt so viel, als zur andern. Hat sich dann nach 24 Stunden in beiden Versuchen gleich viel Fibrin abgeschieden, so ist auch sicher das ganze Fibrinogen zu Fibrin umgewandelt.

Zur Bestimmung der Globuline getrennt vom Serumalbumin fügt man zu 20—50 CC. der serösen Flüssigkeit die gleiche bis doppelte Quantität gesättigter wässriger Lösung von Magnesiumsulfat, erwärmt auf 30° und trägt gepulvertes Magnesiumsulfat in die Mischung, bis bei dieser Temperatur nichts mehr davon gelöst wird, filtrirt und wäscht den Niederschlag mehrmals mit gesättigter Lösung von Magnesiumsulfat. Die abfiltrirte Flüssigkeit mit der ungefähr gleichen Menge Wasser versetzt wird zum Kochen erhitzt, durch einen Tropfen Essigsäure angesäuert, durch gewogenes Filter filtrirt, der Niederschlag mit heissem Wasser anhaltend ausgewaschen, zuletzt mit heissem Alkohol übergossen und nach Ablaufen des Alkohol bei 120° getrocknet und gewogen. Die gewogene Substanz wird verascht und das Gewicht der Asche in Abzug gebracht.

Der Niederschlag der Globuline kann dann mit kaltem Wasser gelöst und diese Lösung ebenso behandelt werden, wie es von der Lösung des Serumalbumin soeben beschrieben ist, nämlich unter Ansäuern durch Kochen coagulirt, der Niederschlag auf dem Filter gewaschen werden u. s. w. Hat man jedoch in besonderer Portion der serösen Flüssigkeit die Summe der Albuminstoffe bestimmt, so ist diese Globulinbestimmung nur als eine Controle anzusehen.

Die Circumpolarisation kann vorläufig zur Bestimmung der Albuminstoffe nicht dienen, weil wegen der verschiedenen Angaben verschiedener Autoren für die Albuminstoffe in serösen Flüssigkeiten gleicher Herkunft und der Verschiedenheit der beim einen oder andern Thier und beim Menschen gefundenen spec. Drehungen der Albumine und Globuline eine gesichertere Feststellung der spec. Drehungen noch erforderlich ist.

Bestimmung des Gehaltes an gerinnbaren Albuminstoffen durch Coagulation und Wägung.

262. 50 bis 100 CC. Wasser werden in einer Porcellanschale zum Kochen erhitzt und in das siedende Wasser eine kleine gemessene

oder gewogene Menge des zu untersuchenden Serum u. s. w. (etwa 15 bis 20 CC.) eingetragen. Man erhält darauf noch einige Minuten im Sieden, während man mittelst eines Glasstabes Tröpfchen verdünnter Essigsäure so lange hinzuspritzt, bis die Gerinnung des Albumin grossflockig und die Flüssigkeit klar erscheint, filtrirt dann durch ein gewogenes Filter, wäscht mit Wasser, endlich mit kochendem Alkohol aus, trocknet Filter und Albumin im Luftbade bei 120°, lässt erkalten über Schwefelsäure und wägt. Man wiederholt Trocknen und Wägen, bis das Gewicht constant bleibt, verascht und bringt das Gewicht der Asche in Abzug. Die Resultate fallen leicht ein Wenig zu niedrig aus, indem etwas von den Albuminstoffen in Lösung bleibt; man prüft das Filtrat mit etwas Essigsäure und Ferrocyankalium und wiederholt die Fällung in neuer Portion, wenn hierbei starke Trübung eintritt.

Bestimmung der Albuminstoffe, Extractivstoffe, Fette, Lecithin, Cholesterin und Salze in Blutserum und anderen serösen Flüssigkeiten.

263. Zur quantitativen Bestimmung des Gehaltes seröser Flüssigkeiten an Eiweissstoffen, Fetten, Salzen, Extractivstoffen u. s. w. hat sich das folgende Verfahren am Besten bewährt und wird deshalb obwohl es unter Umständen (vergl. unten) in mancher Hinsicht abzuändern ist, allein hier ausführlich beschrieben.

Eine Quantität von 20 bis 50 Grm. oder ebenso viel Cubikcentimeter von der Flüssigkeit wird genau abgemessen oder gewogen, in einem hinreichend geräumigen Becherglase mit dem drei- bis vierfachen Volumen Alkohol gemischt, einige Stunden kalt stehen gelassen, dann der Niederschlag auf einem gewogenen aschefreien Filter gesammelt und zunächst mit Weingeist, darauf mit heissem absoluten Alkohol, sodann mit Aether und Alkohol, zuletzt mit kochendem Wasser sorgfältig ausgewaschen. Nur Eiweissstoffe und in Wasser unlösliche Salze bleiben bei dieser Behandlung ungelöst zurück, wenn die Flüssigkeit frei von zelligen Elementen und frei von Blutfarbstoff war; auch andere Farbstoffe bleiben zum Theil im Albuminniederschlage, sind aber dann stets nur in sehr geringer Quantität vorhanden. Ein sehr kleiner Theil der Albuminstoffe geht in das weingeistige Extract über und wird später besonders ausgeschieden.

Das Filter mit den Eiweissstoffen wird zur Entfernung des Wassers noch einmal mit etwas Weingeist gewaschen, dann im Luftbade längere Zeit getrocknet, schliesslich bei 120° über Schwefelsäure erkalten ge-

lassen, gewogen, nochmals getrocknet und gewogen zur Controle darüber, ob kein weiterer Gewichtsverlust beim Trocknen mehr eintritt. Filter und Niederschlag werden dann in einer offenen kleinen Porcellanschale bis zur Entfernung der Kohle geglüht, die zurückbleibende Asche nach Erkalten über Schwefelsäure gewogen.

Durch die obigen vorgeschriebenen Extractionen werden erhalten 1) ein weingeistiger, 2) ein alkoholischer und ätherischer, 3) ein wässriger Auszug.

Der weingeistige Auszug wird zunächst auf dem Wasserbade bei mässiger Wärme verdunstet, der Rückstand mit dem zweiten Auszuge (dem alkoholischen und ätherischen) übergossen, die Lösung abfiltrirt durch ein kleines gewogenes aschefreies Filter, mit mehreren Portionen zunächst von absolutem Alkohol, endlich mit einigen Portionen Aether alles Lösliche abfiltrirt und ausgewaschen, der jetzt bleibende Rückstand mit dem oben unter 3. bezeichneten wässrigen Auszug übergossen, durch das gleiche Filter aber in ein anderes Becherglas filtrirt, noch einige Male mit Wasser ausgewaschen und alles Ungelöste auf dem Filterchen gesammelt. Dieser Rest auf dem Filterchen gehört noch zu den Eiweissstoffen und wird wie diese bei 120° getrocknet, gewogen, verascht und die Asche gewogen (am Einfachsten gleich mit der obigen Hauptportion zusammen in dieser Weise behandelt).

Der wässrige Auszug enthält jetzt sämmtliche in Wasser lösliche, in Alkohol oder Aether unlösliche Stoffe der untersuchten serösen Flüssigkeit, er wird in kleiner Porcellanschale auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand bei 110° bis 115° getrocknet, über Schwefelsäure erkalten gelassen, gewogen, bei sehr mässiger Glühhitze verascht, und die Asche gewogen.

Das alkoholische und ätherische Extract, welches also neben Harnstoff, Zucker, Chlornatrium auch Cholesterin, Fette, Lecithin enthalten kann, wird abermals bei mässiger Wärme (nicht über 70°) im Wasserbade, zuletzt am Besten mit der Luftpumpe über Schwefelsäure verdunstet, der Rückstand mit Aether ausgezogen, durch kleines Filter in eine Kochflasche filtrirt, mit mehreren Portionen Aether nachgewaschen, der ungelöst bleibende Rückstand mit Wasser aus dem Becherglase und vom Filter in ein Porcellanschälchen gespült, auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet, im Luftbade bei 100—110° getrocknet, nach Erkalten über Schwefelsäure gewogen, dann bei mässiger Glühhitze verascht und die im Exsiccator erkaltete Asche gewogen.

Von dem (wie eben beschrieben) erhaltenen Aetherauszuge endlich wird zunächst der grösste Theil des Aethers abdestillirt, dann in ein Becherglas ausgegossen und mit etwas Alkohol und Aether nachgespült, nach Verdunsten des Aethers auf dem Wasserbade bei mässiger Wärme wird der Rückstand über Schwefelsäure mit der Luftpumpe völlig getrocknet und schnell gewogen, dann in Alkohol gelöst, ein Ueberschuss von Aetzkali in absolutem Alkohol gelöst hinzugefügt, diese Mischung auf dem Wasserbade eine Stunde im schwachen Sieden erhalten, endlich der Alkohol verdunstet. Die zurückbleibende Masse von Seifen, Cholesterin, Neurin, glycerinphosphorsaurem Kali, Glycerin, Aetzkali wird in nicht zu wenig Wasser gelöst, diese Lösung in einer Flasche mit der ungefähr gleichen Menge Aether geschüttelt, der Aether nach einiger Zeit abgegossen, die alkalische wässrige Lösung noch einige Male in gleicher Weise mit Portionen Aether behandelt. Von den vereinigten ätherischen Lösungen wird dann der grösste Theil des Aethers abdestillirt, der Rückstand in ein kleines Becherglas ausgeschüttet, mit etwas Alkohol und Aether nachgespült, auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet; es bleibt Cholesterin zurück, verunreinigt mit ein wenig Seife, deren Abtrennung am Besten durch Behandlung der völlig getrockneten Masse mit mehreren kleinen Portionen kalten Alkohol geschieht, da kalter Alkohol die Seifen leicht löst, Cholesterin dagegen ungelöst lässt. Das rückständige Cholesterin wird bei 80° im Luftbade getrocknet und (nach dem Erkalten im Exsiccator) gewogen, die alkoholische Seifenlösung zur übrigen wässrigen Lösung der Seifen gebracht.

Die wässerige durch Aether von Cholesterin befreite Lösung von Seifen, Aetzkali u. s. w. wird dann mit Ueberschuss von Salpeter versetzt, zur Trockne in einer Silber- oder Platinschale verdunstet, der Rückstand bis zur Entfernung der Kohle und nicht länger geschmolzen, die Schmelze nach dem Erkalten in heissem Wasser gelöst, im Becherglase mit starker reiner Salpetersäure unter guter Bedeckung des Glases stark sauer gemacht, einige Zeit im offenen Glase zur Entfernung der Untersalpetersäure auf dem Wasserbade digerirt, dann mit Lösung von molybdänsaurem Ammoniak in Salpetersäure gefällt, 12 Stunden stehen gelassen. Der darauf abfiltrirte nicht weiter zu waschende Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak ist in verdünntem Aetzammoniak zu lösen, die Lösung mit klarer ammoniakalischer Magnesialösung zu fällen, 12 Stunden kalt stehen zu lassen, dann der Niederschlag auf kleinem Filter zu

sammeln, mit verdünntem Ammoniak sorgfältig zu waschen, zu trocknen, heftig zu glühen bis zur Entfernung der Kohle und (nach Erkalten im Exsiccator) zu wägen.

Berechnung und Zusammensetzung der Resultate.

Nach dem beschriebenen Gange ist zunächst das Gewicht der Eiweissstoffe + unlöslicher Salze, dann das Gewicht der letzteren für sich allein bestimmt, durch Abzug des letzteren Gewichtes von ersterem wird also das Gewicht der reinen Eiweissstoffe erhalten, ebenso werden natürlich die Gewichte der in Alkohol unlöslichen und der in Alkohol löslichen Extractivstoffe gefunden. Die Aschen des Wasser- und des Alkoholauszugs zusammen geben das Gewicht der löslichen Salze*). Vom Aetherauszug ist zunächst das Gewicht der Summe der festen Bestandtheile, dann das Gewicht speciell des Cholesterins bestimmt, endlich ist möglichst genau die im Lecithin enthaltene Phosphorsäure als phosphorsaure Magnesia bestimmt. Das gefundene Gewicht der phosphorsauren Magnesia multiplicirt mit der Zahl 7,2748 giebt die Quantität Lecithin des Aetherauszugs; zieht man dann die Summe der Gewichte des Cholesterin und Lecithin vom Gewichte des ganzen Aetherauszugsrückstandes ab, so erhält man das Gewicht der Fette, die in diesem Extracte enthalten sind, vorausgesetzt, dass, wie es gewöhnlich der Fall ist, weder freie fette Säuren noch Farbstoffe oder andere in Aether lösliche Stoffe in wesentlicher Quantität vorhanden waren.

Schliesslich sind die sämmtlichen für Eiweissstoffe, Extractivstoffe, Salze u. s. w. gefundenen Werthe für 100 Grm. oder 100 CC. Flüssigkeit zu berechnen.

Enthält eine seröse Flüssigkeit viel Alkali, so dass gar keine oder sehr unvollkommene Gerinnung beim Kochen derselben eintritt, so ist es zweckmässig, vor dem Zusatz des Weingeist mit Essigsäure zu neutralisiren, obwohl dadurch das Gewicht der in Alkohol löslichen Extractivstoffe um die Differenz der Aequivalentgewichte der Essigsäure und der Kohlensäure zu hoch gefunden werden muss.

Der bisher am Meisten benutzte Gang der Analyse seröser Flüssigkeiten verlangte Abdampfen der Flüssigkeit auf dem Wasserbade, Trocknen und Pulverisiren des Rückstandes und Extraction desselben successive mit Aether, Alkohol, Wasser. Obwohl diese Methode einfacher und zweckmässiger erscheinen kann, bietet sie

---

*) Genauer ist es freilich, die ganzen Aschen nach den angegebenen Bestimmungen zu vereinigen, mit Wasser zu kochen, durch aschefreies Filter zu filtriren, den ungelöst gebliebenen Theil mit dem Filterchen zu trocknen, zu glühen und nach Erkalten zu wägen, und sein Gewicht den unlöslichen Salzen zuzurechnen.

hinsichtlich des Trocknens, Pulverisirens und Extrahirens derartiger sehr compacter und zäher Rückstände sehr bedeutende Schwierigkeiten, besonders wenn man Blut auf diese Weise behandelt, ausserdem wird dabei das Lecithin grösstentheils zersetzt und unbestimmbar.

Nach der hier gegebenen allgemein anwendbaren Methode können ausser den Transsudaten, Blut sowie Serum auch der grösste Theil der übrigen thierischen Flüssigkeiten auf den Gehalt an Extractivstoffen, Eiweissstoffen, Salzen untersucht werden. Auch Amniosflüssigkeit ist in jeder Hinsicht wie eine seröse andere Flüssigkeit nach den geschilderten Methoden zu behandeln. Echinococcenflüssigkeit ist frei von Albuminstoffen, enthält Traubenzucker, Inosit, Bernsteinsäure und viel Chlornatrium.

III. Untersuchung des Blutes.

Allgemeines.

264. Das Blut der Wirbelthiere enthält ausser dem Plasma, dessen Untersuchung nach den im vorigen Capitel gegebenen Methoden ausgeführt wird, in den rothen Blutkörperchen einen Bestandtheil, der der chemischen Untersuchung dieser für den thierischen Organismus wichtigsten Flüssigkeit bedeutende Schwierigkeiten in den Weg legt. Diese Schwierigkeiten beruhen weniger auf der complicirten chemischen Zusammensetzung dieser Körperchen als auf der grossen physikalischen und chemischen Veränderlichkeit, welche sie im Ganzen und in ihren chemischen Bestandtheilen zeigen.

Wenn Blut aus einer Ader gelassen wird, so gerinnt es durch Fibrinbildung meist schnell zur gallertigen Masse, welche unter allmäliger Zusammenziehung der Gallert etwas Blutserum als klare gelbe Flüssigkeit austreten lässt. Der Process der Fibrinausscheidung selbst hat nichts für das Blut Charakteristisches, doch zeigt er Variationen, die mit bestimmten pathologischen Vorgängen aufs Engste verknüpft sind, und es ist daher die Untersuchung dieses Vorganges nach § 266 speciell von Wichtigkeit. Eine Isolirung der rothen Blutkörperchen von dem Plasma, oder im defibrinirten Blute vom Serum, ist nur in so weit ausführbar, als es wohl gelingt, die Blutkörperchen entweder sich senken zu lassen und die klare Flüssigkeit abzugiessen oder nach Zusatz verdünnter Salzlösungen zum defibrinirten Blute die Senkung der Blutkörperchen geschehen zu lassen. Im ersteren Falle sind die Blutkörperchen selbst unverändert, aber in ihren Interstitien befindet sich noch sehr viel Blutserum, im zweiten Falle kann man durch Abgiessen der Flüssigkeit von den abgeschiedenen

Blutkörperchen. Mengung der letzteren mit einer neuen Quantität verdünnter Salzlösung und noch öfterer Wiederholung dieser Procedur die Stoffe des Serum völlig entfernen, aber es bleibt hier eine nur auf Umwegen bestimmbare Quantität der Waschflüssigkeit in den Zwischenräumen der abgeschiedenen Blutkörperchen und diese selbst zeigen eine Veränderung der Form, welche ohne Zweifel auch mit Veränderung der chemischen Zusammensetzung Hand in Hand geht. Die grosse Weichheit und Verschiebbarkeit der Blutkörperchen und die Elasticität, durch welche sie im Stande sind, wenn auf sie ein Druck von einer Seite ausgeübt wird, eine andere Gestalt anzunehmen, ohne wesentlichen starren Widerstand zu leisten, nach Aufhören des Druckes aber in ihre frühere Form zurückzukehren, macht sie fähig, durch Capillaren des Körpers hindurchzuschlüpfen, deren Lumen geringeren Durchmesser besitzt als die Blutkörperchen selbst. Dieselben physikalischen Eigenschaften machen es unmöglich, durch Filtration Blutkörperchen und Serum von einander zu trennen. Zwar kann man die Starrheit der Blutkörperchen sehr wesentlich erhöhen durch Salzzusatz zum Blute, aber auch dann ist die Filtration noch eine unvollkommene, ein Theil der Blutkörperchen geht durchs Filter.

Eine weitere Schwierigkeit für die Untersuchung verursacht die Löslichkeit der Blutkörperchen in Wasser. Fällt ein Tröpfchen Wasser in eine selbst grosse Quantität Blut, so wird das ganze Serum roth gefärbt und die einmal zerstörten Blutkörperchen sind unwiederbringlich verloren. Es ergiebt sich hieraus, dass die Farbe eines Blutserum nur beurtheilt werden kann, dass überhaupt eine genügende Untersuchung des Blutes nur dann ausführbar ist, wenn jeder Tropfen Wasser vermieden wird, sobald man eine Trennung der beiden Bestandtheile des Blutes, des Plasma (oder nach dem Defibriniren) des Serum und der Blutkörperchen bezweckt. Dies bietet aber praktisch einige Schwierigkeit. Fängt man warmes Blut in einem kalten Gefässe auf, so beschlägt die Wandung des Gefässes mit Wassertröpfchen durch die Verdunstung aus dem Blute; um daher schon beim Auffangen des Blutes vom Menschen oder warmblütigen Thieren eine Zerstörung einzelner Blutkörperchen zu vermeiden, ist es erforderlich, das Gefäss, in welches das Blut aufgefangen werden soll, vorher auf die Temperatur des Blutes zu erwärmen, und will man das Serum längere Zeit vom Blutfarbstoff frei halten, so ist das Gefäss mit Blut völlig auszufüllen und zu schliessen, da sonst der Theil des Gefässes über der Flüssigkeit sich schneller abkühlt als das Blut und dann

doch mit einem Wasserniederschlag, der bald in das Blut hinabrinnt, bedeckt wird.

Die Lösung der Blutkörperchen wird aber nicht allein herbeigeführt durch Wasserzusatz, sondern das Gefrieren und Wiederaufthauen, elektrische Schläge durch das Blut geleitet haben dieselbe Wirkung; auch beim Evacuiren der Gase des Blutes werden die Blutkörperchen zum Theil zerstört, und ist der Inhalt der Blutkörperchen krystallisirbar, so tritt unter diesen Verhältnissen Krystallbildung ein. Das Gefrieren und Wiederaufthauen wirkt wahrscheinlich nur dadurch, dass das krystallinisch sich ausscheidende Wasser beim Aufthauen die Blutkörperchen in seiner Nähe löst, ebenso ist es beim Evacuiren der Gase unmöglich zu vermeiden, dass im leeren Raume verdunstendes Wasser an den Wandungen in das Blut zurückrinnt und am Orte des Einfliessens Blutkörperchen löst. Die Wirkung der elektrischen Schläge ist vielleicht eine mechanische, wahrscheinlich auch durch Diffusionsströme bedingte.

Chemische Zusammensetzung der rothen Blutkörperchen.

265. Die chemische Zusammensetzung der Blutkörperchen ist nicht sehr complicirt. Sie enthalten, wenn sie unter dem Mikroskope kernlos erscheinen (Menschen- und Säugethierblut), Hämoglobin oder Oxyhämoglobin und nur Spuren eines Eiweisskörpers, phosphorsaures Alkali, etwas Cholesterin, Lecithin und keine Fette*). Enthalten die Blutkörperchen dagegen Kerne (Vogel-, Amphibien-, Fischblut), so ist das Verhältniss des Hämoglobins zu den Albuminstoffen ein anderes, weil der Hauptbestandtheil der Kerne, Nuclein, mit den Albuminstoffen vereinigt bleibt; auch Phosphate, Cholesterin und Lecithin sind zugleich vermehrt. Wasser enthalten die Blutkörperchen 2—3 Mal so viel als feste Stoffe, die kernhaltigen Blutkörperchen der Vögel sind relativ wasserärmer.

Wenn man das Blut schlägt, durch ein Tuch colirt und mit dem etwa 10fachen Volumen einer Mischung von 1 Volumen concentrirter Chlornatriumlösung und 9 Volumen Wasser mischt, darauf einen Tag stehen lässt, so zeigen sich die Blutkörperchen grösstentheils als

*) Bei der Untersuchung des Blutes verschiedener Säugethiere und Vögel wurde in den Blutkörperchen nur Cholesterin und Lecithin, aber kein Fett nachgewiesen.

schlammiger Niederschlag am Boden abgesetzt. Giesst man die Flüssigkeit ab und behandelt den Niederschlag wiederum mit einer auf das 10fache Volumen mit Wasser verdünnten Chlornatriumlösung und lässt einen Tag stehen, so erhält man als Niederschlag die von Blutserum so gut wie ganz befreiten Blutkörperchen. Uebergiesst man diesen Niederschlag mit Wasser ohne viel umzurühren, so löst sich das Hämoglobin und eine gallertige Gerinnung bleibt ungelöst, welche durch Schütteln mit Wasser und Aether besser ausgefällt wird und dann leicht durch Filtration getrennt werden kann. Der so erhaltene Körper ist unlöslich in Wasser, grösstentheils leicht löslich auf Zusatz einer Salzlösung; auch in Wasser, welches 0,1 pCt. reiner Salzsäure enthält, ist er löslich, gehört also zu den Globulinen.

Die kernhaltigen Blutkörperchen der Vögel geben bei Behandlung mit Wasser und Aether reichlichen Niederschlag von Albuminstoffen und hauptsächlich Nuclein. Durch Behandlung frischer Blutkörperchen mit $^1/_2$—$^3/_4$ procentiger Kochsalzlösung soll man in letztere Lösung übergehend diastatisches Ferment in geringer Menge erhalten.

Hat man die Lösung der Blutkörperchen durch Schütteln mit Wasser und Aether bewirkt, so giebt dann der abgegossene Aetherauszug beim Verdunsten Cholesterin, Lecithin, auch etwas gelben Farbstoff, die nach den in der dritten Abtheilung angegebenen Regeln untersucht werden; eine nicht geringe Quantität von Lecithin bleibt jedoch in der wässerigen Lösung und kann aus derselben nur durch Fällen mit viel warmem Alkohol unter Zersetzung des Blutfarbstoffs erhalten werden.

Das Hämoglobin geht bei der beschriebenen Behandlung mit Wasser meist einfach in Lösung über, die Blutkörperchen vieler Thiere, als Meerschweinchen-, Ratten-, auch Hundeblut u. s. w. liefern jedoch dabei Krystalle von Hämoglobin, wenn nicht sehr viel Wasser zugesetzt war. Die Blutkörperchen haben einen variablen Gehalt an Gasen, besonders an Sauerstoff, da es jedoch nicht im Plane dieser Anleitung liegt, die Untersuchung der Gase im thierischen Körper zu behandeln, sind auch alle den Gasgehalt der Blutkörperchen betreffenden Verhältnisse nicht besprochen.

Alle Untersuchungen des Blutes auf Körper, die nicht den Albuminstoffen zugehören, also auf Zucker, Gallenstoffe, Leucin, Kreatin u. s. w. werden nach den Methoden ausgeführt, welche für seröse Flüssigkeiten in § 258 angegeben sind; die Gegenwart der Blutkörperchen bietet für diese Untersuchung kein Hinderniss. Zur Unter-

suchung der Bestandtheile des Blutserum lässt man das Blut gerinnen, giesst nach einiger Zeit das Serum ab und untersucht dies nach den früher beschriebenen Methoden.

Die Gerinnung des Blutes.

266. Wird das Blut von Menschen und Thieren aus der Ader gelassen, so gerinnt es gewöhnlich in wenigen Minuten. Erheblich verlängert wird die Zeit, welche bis zur Gerinnung verstreicht, wenn man das Blut in einem durch Eis gut gekühlten Gefässe auffängt und ruhig darin stehen lässt. Es gerinnt schnell bei höherer Temperatur und bei geringem Salzgehalt; durch Zusatz von Salzlösungen, besonders salpetersauren Salzen, auch schwefelsaurer Magnesia wird die Gerinnung erheblich verlangsamt oder bei grösserem Salzzusatz ganz verhindert; sie tritt dann meist ein, wenn man das Gemisch mit Wasser verdünnt, nach Zusatz von viel Magnesiumsulfat geschieht dies nicht.

Reichlicher Gehalt an Kohlensäure und Mangel an Sauerstoff im Blute verlangsamt gleichfalls die Gerinnung.

Zuweilen gerinnt das Blut in den Leichen binnen 12 Stunden nicht, gerinnt aber sowie es aus den Adern gelassen wird; in anderen Fällen gerinnt es aus der Ader gelassen theilweise, kann filtrirt werden, liefert dann nach einiger Zeit wieder eine Gerinnung u. s. w. (Fibrin langsamer Gerinnung), in wieder anderen Fällen gerinnt es gar nicht, doch ist dies nur selten. Die Ursachen dieser Verschiedenheiten des Blutes bei verschiedenen Krankheiten sind noch nicht genügend untersucht, im Ganzen kann man jedoch so viel bis jetzt als ausgemacht ansehen:

1) Das Blut gerinnt, alles Uebrige gleich gesetzt, um so schneller, je verdünnter, wässeriger es ist, daher schnelle Gerinnung nach Blutverlusten und bei Hydrämischen.

2) Das Blut gerinnt um so langsamer, je ärmer an Sauerstoff und reicher an Kohlensäure es ist.

Die Gerinnung des Blutes ist ferner um so fester, elastisch zäher, je wasserreicher und je ärmer an Blutkörperchen, rothen und farblosen, das Blut ist. Ein wasserarmes (Cholera), an rothen Blutkörperchen (Plethora) oder farblosen Blutzellen (Leukämie) reiches Blut giebt lockere leicht zerdrückbare Gerinnung.

Mischt man dem Blute ein Wenig Aetzalkali oder hinreichende

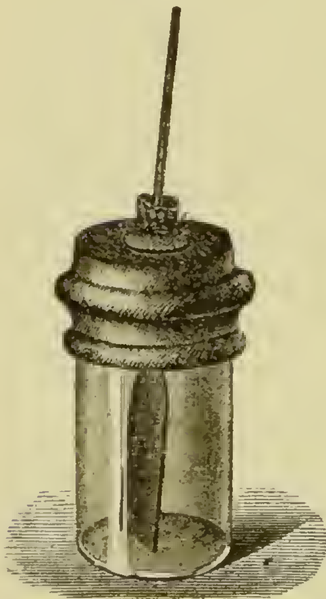
Quantität Essigsäure zu, ehe es geronnen ist, so tritt keine Gerinnung ein. Durch Quirlen oder Schlagen des Blutes mit einem Stäbchen wird die Gerinnung beschleunigt und das Fibrin scheidet sich in Flocken und elastischen Fasern aus.

Bestimmung des Fibringehaltes im Blute oder Plasma.

267. Zur Bestimmung des Fibringehaltes im Blute benutzt man mit Vortheil ein kleines Becherglas, welches mit einer Kautschukkappe geschlossen ist (Fig. 16). Durch einen kleinen Röhrenansatz in der Mitte des Kautschuküberzuges steckt man den Stiel eines ruderförmigen Fischbeinstäbchens, so dass der untere breite Theil desselben fast den Boden des Becherglases berührt, wenn die Kautschukkappe über dasselbe gezogen ist.

Man wägt den so vorbereiteten und gut getrockneten Apparat, nimmt den Kautschuküberzug ab, fängt eine Portion von 30—40 CC. des zu untersuchenden Blutes darin unmittelbar aus der Ader auf (zur Bestimmung im Plasma hebt man die entsprechende Portion aus dem im Eis stehenden Plasma mit einer Pipette hinein), zieht die Kautschukkappe über, schlägt nun das Blut etwa 10 Minuten lang und wägt nach dem völligen Erkalten. Man ist auf diese Weise im Stande, das Schlagen des Blutes auszuführen, ohne durch Verdunstung Gewichtsverlust desselben herbeizuführen. Nachdem das Gewicht des Blutes ermittelt ist, hebt man den Kautschuküberzug ab, füllt das Becherglas fast ganz mit Wasser, rührt stark um und lässt das Fibrin sich absetzen, giesst darauf die klare Flüssigkeit in ein anderes Becherglas ab und bringt mit einer neuen Portion Wasser, dem einige Tropfen Kochsalzlösung zugesetzt sind, das Fibrin auf ein kleines gewogenes Filter und wäscht mit reinem Wasser so lange aus, bis die ablaufende Flüssigkeit völlig farblos und das Fibrin selbst höchstens hellrosaroth gefärbt erscheint. Mit einer reinen Pincette gelingt es leicht Fibrinfasern, die am Fischbeinstäbchen haften, abzunehmen und dem übrigen auf dem Filter zuzufügen. Schliesslich wäscht man das Fibrin noch einige Male mit siedendem Alkohol, um eingeschlossene Fette, Lecithin, Cholesterin zu lösen und zu entfernen,

Fig. 16.



trocknet dann Filter und Fibrin bei 110—120° im Luftbade und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure.

Es ist im Falle, dass eine ganze Analyse des Blutes ausgeführt werden soll, zweckmässig, die abgegossenen und abfiltrirten Flüssigkeiten (jedoch ohne die letzten alkoholischen Filtrate) zu sammeln, da man diese Lösung zur Bestimmung des Hämoglobingehaltes des Blutes mit Vortheil benutzen kann.

Der Zusatz von etwas Chlornatrium zu der zweiten Portion des Waschwassers hat den Zweck, das niederfallende Serumglobulin, das grossentheils aus den Blutkörperchen stammt und beim Verdünnen des Blutes mit Wasser gefällt wird, zu lösen. Bei Säugethierblut hat dieser Salzzusatz nur den Vortheil, dass die Flüssigkeiten besser filtrirbar werden; in Vogel- und Amphibienblut dagegen ist es zweckmässig, zum Auswaschen des Fibrin nur ein- bis dreiprocentige Glaubersalzlösung zu verwenden, bis das Fibrin fast ganz von Blutkörperchen befreit ist, weil im Wasser die Blutkörperchen sich zwar zum Theil lösen, die Kerne der Blutkörperchen aber sehr schwer durch Decantiren von Fibrin zu trennen sind. Erst zuletzt wendet man auch hier Wasser und endlich heissen Alkohol an.

Absolut genaue Resultate liefert die angegebene Bestimmungsmethode des Fibrin nicht, aber immerhin recht brauchbare. Von grossem Belang für ein schnelles Gelingen und genaue Bestimmung ist es, dass man so lange wäscht und decantirt, bis die Flüssigkeit über dem Fibrin fast völlig klar bleibt, erst dann bringt man das Fibrin aufs Filter und wäscht mit Wasser weiter. Bringt man das Fibrin zu früh auf das Filter, so filtrirt die Flüssigkeit sehr langsam und es kann Fäulniss vor der Beendigung eintreten. Verfährt man nach diesen Vorschriften, so erhält man gleichmässige und sehr befriedigende Resultate und jede Bestimmung ist in wenigen Stunden bis auf das Trocknen des Fibrins beendet. Die Bedenken, welche hier und da ausgesprochen sind gegen die Zuverlässigkeit der Fibrinbestimmungen, sind ohne Bedeutung, wenn man Papierfilter, nicht leinene Tücher anwendet und die angegebenen Vorschriften befolgt.

Bestimmung des Gehaltes an Oxyhämoglobin im Blute.

268. Der Gehalt des Blutes an Oxyhämoglobin kann entweder durch Ermittelung des Eisengehaltes oder durch die Intensität der Farbe nach Verdünnung des Blutes mit Wasser bestimmt werden.

Der Eisengehalt des Blutes lässt sich zwar recht genau ermitteln, aber er ist so gering, dass die unbedeutenden aber unvermeidlichen Fehler, welche bei der Analyse gemacht werden, bedeutende Fehler in der Berechnung des Oxyhämoglobin hervorrufen. Auch die anderen Methoden der Bestimmung haben keine grosse Genauigkeit, doch sind sie immerhin sicherer und viel schneller auszuführen als die erstere.

1) Um den Gehalt an Oxyhämoglobin durch Wägung des Eisenoxyds zu bestimmen, wird eine gemessene oder abgewogene Quantität des zu untersuchenden Blutes, 50—100 Grm. in einer Schale zur Trockne verdunstet, der Rückstand nach dem in § 201 angegebenen Verfahren verascht und in der Asche nach den §§ 213 und 214 das enthaltene Eisenoxyd bestimmt. Da das Oxyhämoglobin 0,42 pCt. Eisen (entsprechend 0,6 pCt. Eisenoxyd) enthält, so giebt das gefundene Eisenoxyd multiplicirt mit 166,7 das in der untersuchten Blutquantität enthaltene Oxyhämoglobin. Die Methode ist dadurch ungenau, dass die geringen unvermeidlichen Fehler in der Bestimmung des Eisenoxyds durch die Multiplication mit obiger Zahl erhebliche Fehler in der Bestimmung des Oxyhämoglobins verursachen. Es ist ausserdem dabei vorausgesetzt, dass kein Eisen im Blute in anderer Verbindung enthalten sei, als nur im Oxyhämoglobin. Um nur das Eisen, welches nicht an Phosphorsäure gebunden ist, als Oxyhämoglobin zu verrechnen, hat C. Schmidt die Blutasche mit Salpetersäure extrahirt, da diese das phosphorsaure Eisenoxyd leicht löst, das geglühte freie Eisenoxyd aber nicht angreift. Wollte man diese Trennung ausführen, so müsste man zuerst durch Wasser die Chlormetalle völlig entfernen, ehe man die Salpetersäure wirken liesse; nach meinen Versuchen entsteht aber das phosphorsaure Eisenoxyd erst beim Veraschen des Blutes; wenn man Blutkörperchen von Vogelblut verascht, bekommt man das Eisenoxyd nicht frei, sondern sogar gänzlich an Phosphorsäure gebunden. Man bestimmt das Eisen in der Blutasche am Besten durch Titrirung mit übermangansaurem Kali (vergl. bei den Aschenuntersuchungen § 214)*).

2) Um durch die Intensität der Farbe die Bestimmung des Oxyhämoglobingehaltes auszuführen, kann man zwei verschiedene Wege einschlagen, indem man entweder das mit Wasser verdünnte Blut mit einer reinen Lösung von Oxyhämoglobin von be-

---

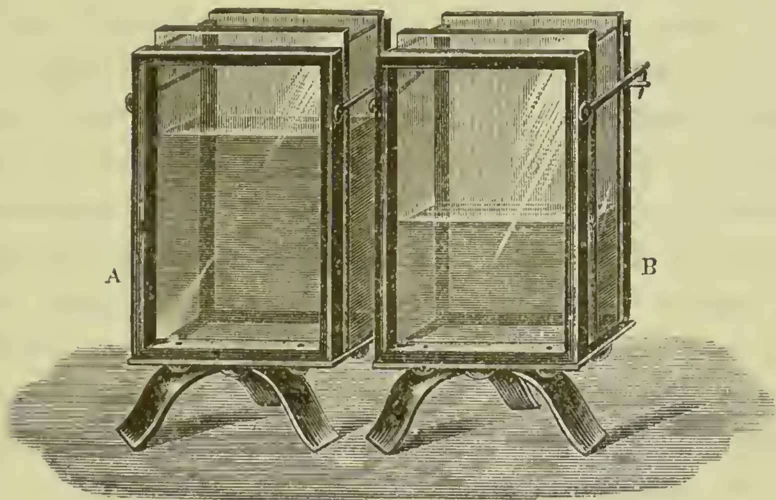
*) Zahlreiche Bestimmungen nach dieser Methode sind von Pelouze ausgeführt. Compt. rend. Mai 1865. p. 880.

kanntem Gehalte in gleicher Dicke der Schicht vergleicht, oder nach Preyer's, Vierordt's, Hüfner's Methode mit dem Spectralapparate untersucht.

Bestimmung des Oxyhämoglobingehaltes im Blute durch Vergleichung seiner Farbe mit der einer reinen Oxyhämoglobinlösung.

269. Nach den in § 189 angegebenen Methoden stellt man aus Hunde-, Gänse-, am Besten aus Meerschweinchen- oder Pferdeblut krystallisirtes Oxyhämoglobin dar und reinigt es durch Umkrystallisiren, löst dann bei 0° in Wasser und filtrirt. Von dieser concentrirten Normallösung misst man 20 CC. genau mit einer Bürette ab, lässt sie in eine Porcellanschale fliessen, verdunstet auf dem Wasserbade, dann im Luftbade zur völligen Trockne bei 120° und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Von der übrigen Lösung, die in gut

Fig. 17.



verschlossenen kleinen Flaschen zu verwahren ist, werden 10 CC. mit 10—60 CC. Wasser verdünnt, die Mischung gut umgeschüttelt und als verdünnte Normallösung bezeichnet. Um mittelst dieser Lösung den Gehalt eines Blutes an Oxyhämoglobin zu bestimmen, wird eine kleine abgewogene Quantität des am Besten vorher defibrinirten Blutes (etwa 1—20 Grm. oder noch weniger) mit viel Wasser verdünnt, so dass 20 Grm. Blut etwa auf 400 CC. verdünnt werden, misst das Volumen dieser Blutlösung und schreitet nun zur Farbenvergleichung. Da sich in cylindrischen Gefässen die Färbung zweier Flüssigkeiten schwer vergleichen lässt, bedient man sich viel besser der in Fig. 17 dargestellten Glaskästchen, deren jedes aus zwei planparallelen Glasplatten besteht,

die durch einen metallenen Rahmen gegen die abgeschliffenen Ränder eines Uförmigen, genau 1 Cm. breiten, aus einer viereckigen Flasche ausgeschnittenen Glasplattenstücks gepresst werden*). Den einen dieser Glaskästen *A* füllt man mit der verdünnten Normallösung, in den anderen bringt man 10 CC. der verdünnten Blutlösung, stellt beide Apparate auf einen Bogen weisses Papier dicht neben einander und zwar so, dass man das vom weissen Papier reflectirte und durch die Glaskästchen und die enthaltenen Flüssigkeiten gehende Licht beobachtet. Die Blutlösung wird noch immer bedeutend dunkler sein als die verdünnte Normallösung, man lässt nun aus einer Bürette cubikcentimeterweise so lange Wasser zu der Blutlösung unter Umrühren mit einem Fischbeinstäbchen zufliessen, bis die Färbung beider Flüssigkeiten gleich geworden ist, und liest ab, wie viel Wasser zu 10 CC. Blutlösung hinzugefügt wurden, um dies Resultat zu erhalten. Diese Bestimmung erreicht aber nur dann möglichste Genauigkeit, wenn auch die verdünnte Normallösung die richtige Verdünnung besitzt. Hat man nun in der angegebenen Weise die Bestimmung ausgeführt, so giesst man die verdünnte Normallösung zurück und reinigt beide Glaskästchen, lässt 20 CC. der verdünnten Normallösung in *A* einfliessen, fügt 10 CC. Wasser hinzu, mischt sorgfältig, bringt dann wieder 10 CC. in das Kästchen *B* und wiederholt die Bestimmung durch Verdünnen der Blutlösung mit gemessenen Wassermengen, bis die Färbung beider Flüssigkeiten gleich geworden ist. Man kann dann noch bei einer Verdünnung der Normallösung auf die Hälfte ihrer Concentration die Bestimmung wiederholen. Trübungen entfernt man meist leicht durch einen Tropfen Aetzalkalilauge ohne Nachtheil für den Blutfarbstoff.

Ist die Färbung beider Flüssigkeiten die gleiche, so enthalten beide in gleicher Quantität auch gleichviel Oxyhämoglobin und es ist daher der Gehalt des Blutes an diesem Farbstoff leicht zu berechnen.

Es wurden z. B. 20,1862 Grm. defibrinirtes Hundeblut mit Wasser auf 400 CC. Mischung verdünnt, von dieser Mischung mussten 10 CC. mit 38 CC. Wasser verdünnt werden, um gleiche Farbe mit der verdünnten Normallösung zu erhalten. Hiernach würden die 400 CC. Blutlösung auf 1920 CC. verdünnt werden müssen, um die

*) Diese zu vielen Zwecken brauchbaren Apparate werden von den Optikern Schmidt und Haensch in Berlin vortrefflich angefertigt.

gleiche Farbe mit der Normallösung zu erhalten. Da nun die in der oben angegebenen Weise untersuchte verdünnte Normallösung in 100 CC. 0,145 Grm. Oxyhämoglobin enthielt, so würden in 1920 CC. Blutlösung von gleicher Färbung 2,784 Grm. Oxyhämoglobin enthalten sein, und da diese Lösung aus 20,1862 Grm. Blut gewonnen war, so enthielt also das defibrinirte Blut 13,79 pCt. Oxyhämoglobin.

Die für diese sowie die folgenden Methoden der Bestimmung des Blutfarbstoffs stets erforderliche Normallösung von reinem Oxyhämoglobin kann nur an kalten Wintertagen sicher und bequem dargestellt werden. Beim Aufbewahren geht besonders in concentrirter Lösung der Farbstoff in Methämoglobin über, kann aber durch Stehenlassen in gut verschlossener Flasche wieder vollkommen brauchbar werden. Man schliesst in zugeschmolzenen Röhren oder in kleinen Flaschen, die fast ganz damit gefüllt und sehr gut verkorkt sind, frisch bereitete concentrirte Normallösung ein und lässt sie bei Stubentemperatur stehen. Durch die Fäulniss der unvermeidlichen kleinen Verunreinigungen wird dem Luftraum in der abgeschlossenen Flasche sehr bald der Sauerstoff entzogen, zugleich der locker gebundene Sauerstoff des Oxyhämoglobins verbraucht, dann meist bereits entstandenes Methämoglobin reducirt und eine reine Hämoglobinlösung gebildet, welche viele Jahre unverändert bleibt (meine Erfahrungen erstrecken sich auf 7 Jahre). Will man eine Bestimmung ausführen selbst in heissen Sommertagen, so kühlt man ein Fläschchen mit Normallösung auf 0° ab, öffnet dann, schüttelt die Lösung mit Luft und kann nun sofort zur Bestimmung schreiten*). Will man die Bestimmung mit Kohlenoxydhämoglobin ausführen, so leitet man Kohlenoxyd durch das zu untersuchende Blut und ebenso durch die Normallösung entweder vor dem Einschliessen oder unmittelbar nach Entfernung des Verschlusses (Kohlenoxydhämoglobin ändert sich in seiner Lösung in geschlossener Flasche nach meiner Erfahrung in 25 Jahren nicht); es bietet jedoch die Farbenvergleichung des mit Kohlenoxyd verbundenen Farbstoffs keinen Vortheil.

Modificationen dieser Methode sind beschrieben von v. Lesser**) und von H. Quincke***). Die erstere Modification ist unzweifelhaft weniger genau als die oben beschriebene Methode besonders wegen

*) Vergl. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. S. 125 u. 131.

**) Arch. f. Physiol. v. Du Bois-Reymond. Jahrg. 1878.

***) Berlin. klin. Wochenschr. 1878. No. 31.

zu starker Lichtabsorption*). Die letztere soll schnelle, ungefähre Bestimmung in sehr kleinen Mengen Blut ermöglichen; sie wird am Besten mit Kohlenoxydhämoglobin ausgeführt werden, verlangt aber Farbevergleichung in cylindrischen Röhren. Eine Modification der Farbenvergleichung für specielle Fälle habe ich beschrieben**).

Bestimmung des Oxyhämoglobingehaltes im Blute mittelst des Spectralapparates.

270. Von Preyer***) ist eine Methode der Bestimmung des Oxyhämoglobingehaltes im Blute empfohlen, welche gleichfalls auf einer Vergleichung der Lichtabsorption einer reinen Farbstofflösung und des verdünnten Blutes beruht und welche das Sichtbarwerden des ersten grünen Lichtstreifens bei der Spectraluntersuchung zur Bestimmung des Concentrationsgrades benutzt.

Zur Ausführung dieser Bestimmung sind ausser dem Spectralapparate (dessen Spalt unveränderlich sein kann) erforderlich eine Pipette und eine Bürette, welche in $^1/_{100}$ CC. getheilt sind oder wenigstens $^1/_{100}$ CC. mit Sicherheit zu schätzen gestatten, ausserdem eine constante Lichtquelle, für welche Preyer eine Petroleumlampe empfiehlt.

Es soll zunächst ein für alle Mal bestimmt werden, bei welcher Concentration eine Lösung gereinigter Oxyhämoglobinkrystalle in einem Glaskästchen mit planparallelen Wandungen bei 1 Cm. Dicke der Flüssigkeitsschicht mit dem Spectralapparate untersucht gerade die Erscheinung zeigt, dass in der Gegend der Spectrallinie b das erste grüne Licht auftritt, welches bei geringer Vergrösserung der Concentration wieder verschwindet, bei weiterer Verdünnung dagegen sich schnell aufhellt und verbreitert. Von einer solchen Normallösung wird durch Abdampfen einer gemessenen Portion, Trocknen des Rückstandes bei 100° und Wägen desselben der Procentgehalt an Oxyhämoglobin bestimmt. (Preyer fand diesen Gehalt in der von ihm benutzten Lösung = 0,8 pCt., als sie unter den Verhältnissen, unter denen er arbeitete, das erste grüne Licht im Spectrum erscheinen liess.)

Um dann den Oxyhämoglobingehalt in einem Blute zu bestimmen,

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 345.

**) Ebendas. Bd. 5. S. 1 u. S. 346.

***) Ann. Chem. Pharm. Bd. 140. S. 187.

wird das frische Blut durch Schlagen defibrinirt, nicht filtrirt, sondern von demselben mit der oben bezeichneten Pipette eine genau abgemessene Portion (vielleicht 0,5 CC.) in das Glaskästchen gebracht. Zu dieser Blutportion lässt man nun aus der Bürette so lange unter Umrühren mit einem Elfenbeinstäbchen destillirtes Wasser hinzutröpfeln, bis die Mischung in bestimmter Stellung zwischen der Lampe und dem Spalte des Spectralapparates gerade das erste grüne Licht erscheinen lässt. Ist dann k der Procentgehalt an Oxyhämoglobin in der dieselbe Erscheinung hervorrufenden Normallösung, ferner w das zugesetzte Wasservolumen, b das abgemessene Blutvolumen, so ist der Procentgehalt x des Blutes an Oxyhämoglobin $x = \frac{k(w + b)}{b}$.

Dieses Verfahren ist von Preyer zwar dem im vorigen Paragraphen beschriebenen weit vorangestellt, ist aber, da man eine constante Lichtquelle auf längere Zeit in der einfachen angegebenen Weise unmöglich erhalten kann und da man auch den Spectralapparat kaum so constant erhalten kann, als es nöthig wäre, überhaupt nur in der Weise zu gebrauchen, dass man gleichfalls stets frische reine Oxyhämoglobinlösung zum Vergleiche bereit hält: sie giebt dann eben so gute aber nicht bessere Resultate, als die im vorigen Paragraphen beschriebene Methode und wurde schon lange vor der Publication von Preyer vom Verf. d. Handb. versucht, aber wieder verworfen. Das Verfahren würde sich noch vereinfachen lassen durch Anwendung eines spitzen Hohlprisma mit der Blutlösung oder Oxyhämoglobinlösung gefüllt, horizontal vor dem Spalte verschiebbar, mit einer Scala an der einen Seite desselben, doch hat auch diese Veränderung noch keine wesentlichen Vortheile gebracht, eben so wenig als die Anwendung verschiedener colorimetrischer Vorrichtungen nach dem Principe des Soleil'schen Saccharimeters u. s. w. Will man, wie es Preyer empfiehlt, das Blut bei obiger Bestimmung mit Kohlenoxyd behandeln vor der Abmessung und Untersuchung, so müsste wenigstens dasselbe auch mit der Oxyhämoglobinlösung geschehen. Wichtiger ist der Zusatz von einer Spur Aetzalkali zum destillirten Wasser, mit dem die gemessene Blutportion verdünnt wird, weil hierdurch Trübungen vermieden werden, die einen Fehler in der Bestimmung bedingen müssen, indem sie Licht durch Zerstreuung entfernen.

Neuerdings hat Quincke*) Bestimmungen des Hämoglobingehalts im Blut ausgeführt, indem er sich eines Hohlprisma in der angegebenen Weise bediente. Er fand im Menschenblute in einem Falle 14,4 und im anderen 14,1 Grm. Oxyhämoglobin für 100 Grm. Blut, bei Leukämie aber nur 5,8 pCt. Oxyhämoglobin.

Gréhant und Quinquaud**) haben Bestimmungen des Blutfarbstoffs im Blute durch Messung der Sauerstoffabsorption durch dasselbe auszuführen versucht. Diese an sich ganz interessanten Versuche haben jedoch mit verschiedenen Fehler-

*) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 54.

**) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1873. S. 825.

quellen zu kämpfen und können hier nur beiläufige Erwähnung finden, weil es nicht im Plane dieses Handbuchs liegt, auf die gasometrischen Methoden einzugehen.

Ganz verschieden von dem Verfahren Preyer's sind die Anwendungen, welche das Spectroscop in Verbindung mit photometrischen Apparaten zuerst von Vierordt*), später in vortrefflicher Anordnung der Apparate von Hüfner**), neuerdings zum Theil nach Glan, ausserdem nach einer eignen Anordnung der Apparate von Quinquaud und Brany***) erhalten hat. Die Beschreibung dieser zum Theil recht complicirten und schwer zu regulirenden Apparate würde nur verständlich sein können, wenn Abbildungen wenigstens einzelner Theile derselben sie unterstützten. Diese Abbildungen würden allein mehrere Seiten einnehmen, es muss deshalb hier darauf verzichtet und auf die Originalarbeiten verwiesen werden†). Da die Blutfarbstoffe nicht allein an einer Stelle des Sonnenspectrum, sondern an zahlreichen starke Lichtabsorptionen ausführen, kann es nicht wohl von Vortheil sein, die photometrische Vergleichung im einfarbigen Lichte auszuführen. Dagegen gelingt es durch diese Methoden, zwei Farbstoffe, Oxyhämoglobin und Hämoglobin, die an verschiedenen Stellen des Spectrum starke Absorptionen zeigen, in einer Flüssigkeit, z. B. venösem Blute neben einander zu bestimmen, wie dies von Hüfner bereits ausgeführt ist††). Mit dem Vierordt'schen sowie mit dem Hüfner'schen Apparate sind bereits zahlreiche Untersuchungen angestellt.

Bestimmung des Gewichtes der rothen Blutkörperchen in einer bestimmten Quantität Blut.

I. Bestimmung der nassen Blutkörperchen durch den Fibringehalt von Blut und Plasma.

271. Obwohl auch die Blutkörperchen der Säugethiere eine Spur Fibrin bei ihrer Behandlung mit Wasser bilden, so ist diese Spur doch eine so geringe, dass man sie ohne wesentliche Ungenauigkeit vernachlässigen kann. Sieht man aber von derselben ab, so ist das Blut nur im Plasma fibrinhaltig (oder besser fibrinbildend). Bestimmt man nun in einer gewogenen Quantität Blut nach § 267 das Fibrin und ebenso in einer gewogenen Quantität Plasma desselben Blutes, so ist aus dem Fibringehalte dieser beiden Flüssigkeiten leicht zu berechnen, wie viel Plasma das Blut enthält. Zieht man dann vom Gewichte des ganzen Blutes das Gewicht seines Plasma ab, so bleibt als Rest das Gewicht der rothen Blutkörperchen und der farblosen

*) K. Vierordt, Die quantitative Spectralanalyse etc. Tübingen 1876. Mit Abbildungen.

**) Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 16. S. 290. Mit Abbildungen.

***) Arch. générales de médecine. Août 1882. Ohne Abbildung.

†) Vergl. oben S. 21 Spectrophotometrie.

††) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 1.

Blutzellen. Ob man die letzteren wird vernachlässigen dürfen ohne wesentlichen Fehler für die Zusammensetzung des Blutes, hängt natürlich von dieser jedesmaligen Zusammensetzung selbst ab; jedenfalls kann das Mikroskop hierüber entscheiden und in den meisten Fällen (ausgenommen Milzvenenblut, leukämisches und pyämisches Blut) wird der dadurch entstehende Fehler verschwindend klein ausfallen. Diese Methode ist aber nur für Blut anwendbar, dessen Fibrin langsam gerinnt und dessen Blutkörperchen sich schnell senken; also Pferdeblut oder Blut von Menschen, welche an Entzündungskrankheiten leiden, würde sich für diese Analyse eignen.

Man verfährt bei dieser Untersuchung zweckmässig in folgender Weise: Man fängt eine grössere Portion Blut in einem cylindrischen Gefässe auf, welches in Eis steht, ausserdem eine zweite Portion von etwa 30—50 CC. in einem Apparatchen zur Fibrinbestimmung (vergl. § 267), schlägt letzteres darin und bestimmt nach den dort gegebenen Regeln den Fibringehalt des Blutes. Von der ersteren grösseren Blutportion hebt man, wenn die Blutkörperchen sich hinreichend gesenkt haben, 30—50 CC. ungeronnenes Plasma mit einer kalten Pipette vorsichtig ab, lässt sie in einen zweiten Fibrinapparat fliessen, schliesst mit der Kautschukkappe, schlägt das Plasma und bestimmt gleichfalls nach § 267 darin den Fibringehalt. Eine einfache Proportion lässt dann den Plasma- und Blutkörperchengehalt des Blutes berechnen, wie oben bereits auseinandergesetzt ist.

Ein wesentlicher Uebelstand für diese Bestimmungsmethode wird dadurch hervorgerufen, dass wegen des geringen Gehaltes an Fibrin in Blut und Plasma die Fehler in der Bestimmung des Fibrin bei der Berechnung des Plasma verhundertfacht werden.

II. Bestimmung des Gehaltes des Blutes an Blutkörperchen durch den Gehalt der letzteren an Oxyhämoglobin und Albuminstoffen.

272. Die rothen Blutkörperchen enthalten ausser Wasser, Cholesterin, Lecithin und Salzen Oxyhämoglobin und Albuminstoffe in Verhältnissen, die bei verschiedenen Thieren bedeutende Verschiedenheiten zeigen. Sie lösen sich nicht in Flüssigkeiten, die über $1\frac{1}{2}$ pCt. Chlornatrium enthalten, lösen sich dagegen in Wasser zu einer trüben Flüssigkeit, die sich auf Zusatz von einigen Tropfen Chlornatriumlösung allmälig klärt ohne Bildung eines Niederschlags. Da nun verdünnte Chlornatriumlösung den Blutkörperchen weder Oxyhämoglobin

noch Albuminstoffe entzieht, das Blutserum sich dagegen klar mit der Kochsalzlösung mischt, so gewährt sie ein vortreffliches Mittel zur Trennung der Blutkörperchen vom Serum, wenn man defibrinirtes Blut mit einem grossen Ueberschuss der Kochsalzlösung mischt, dann im ruhigen Stehen die Blutkörperchen sich senken lässt, die Flüssigkeit klar vom Niederschlage abgiesst. Wenn auch Salze, Extractivstoffe und Wasser zum Theil aus den Blutkörperchen in die Salzlösung sich diffundiren mögen, bleiben doch Oxyhämoglobin und Albuminstoffe darin unverändert, und hierauf kommt es allein an. Wenn man dann die mehrfach mit Kochsalzlösung gewaschenen Blutkörperchen einer gewogenen Blutportion von der letzten Flüssigkeit durch Abgiessen getrennt, mit überschüssigem Weingeist fällt, den Niederschlag auf ein gewogenes Filter bringt, mit warmem absoluten Alkohol, dann mit Aether, endlich mit warmem Wasser auszieht, dann trocknet, wägt, verascht und die Asche mit Ausnahme des Eisenoxyds von dem Gewichte der trocknen Albuminstoffe + Oxyhämoglobin abzieht, so erhält man als Rest das Gewicht der Albuminstoffe und des Oxyhämoglobin der Blutkörperchen einer bestimmten Portion Blut. Da man ferner in einer anderen Portion Blut den Gehalt an Albuminstoffen + Oxyhämoglobin des ganzen Blutes bestimmen kann, so erhält man durch Subtraction der Albuminstoffe + Oxyhämoglobin der Blutkörperchen von dem Gewicht dieser Stoffe im ganzen Blute das Gewicht derjenigen Albuminstoffe, die dem Blutplasma zugehören. Ist endlich eine Bestimmung des Fibringehaltes ausgeführt und des Gehaltes an Albuminstoffen im Blutserum, so kann aus dem Gehalte an Serumalbuminstoffen im Blute der Gehalt des Blutes an Serum und (mit Berücksichtigung des Fibrin) an Plasma berechnet werden. Zieht man das Gewicht des Plasma vom Gewichte des ganzen Blutes ab, so bleiben als Rest die nassen Blutkörperchen.

Zur Ausführung dieser Bestimmung fängt man am Besten vier einzelne Portionen Blut auf.

Die erste Portion von etwa 20—50 CC. in einem Becherglase aufgefangen, mit Uhrglas bedeckt, wird gewogen und in ihr das Gewicht der Albuminstoffe des Blutes + Oxyhämoglobin zusammen nach § 263 bestimmt.

Die zweite Portion von etwa 20—30 CC. wird in einem Fibrinapparate (vergl. § 267. Fig. 16) aufgefangen, gewogen und das Fibrin darin bestimmt.

Die dritte Portion, auch etwa 20—30 CC. wird in einem

Fibrinapparate aufgefangen, geschlagen, nach dem Erkalten gewogen, mit dem 10fachen Volumen einer Mischung von 1 Volumen concentrirter Chlornatriumlösung und 9 Volumen Wasser gemischt, 12 bis 24 Stunden stehen gelassen und, wenn die Blutkörperchen sich gut abgesetzt haben, die Flüssigkeit völlig klar abgegossen. Man rührt die Blutkörperchen noch ein oder zwei Mal mit einem der abgegossenen Flüssigkeit gleichen Volumen jener Salzlösung auf, lässt einige Stunden ruhig stehen, giesst die Flüssigkeit klar ab, fällt dann mit überschüssigem Weingeist die Blutkörperchen, Fibrin und Rest der Waschflüssigkeit, den man nicht ohne Verlust abgiessen konnte, und bestimmt nach § 263 Albuminstoffe und Oxyhämoglobin, sowie die übrigen Bestandtheile der Blutkörperchen.

In der vierten Portion Blut, die man nicht zu klein nehmen darf und zweckmässig in einer Porcellanschale auffängt, lässt man nach Zudecken des Gefässes das Fibrin gerinnen; das dann allmälig aus dem Blutkuchen auslaufende Serum wird abgegossen in ein Becherglas, gewogen und nach § 263 darin der Gehalt an Albuminstoffen bestimmt.

Die sämmtlichen durch diese Bestimmungen erhaltenen Werthe werden dann zunächst für 100 Grm. Blut berechnet; man zieht nun das Gewicht der in der dritten Portion Blut getrennten Albuminstoffe + Oxyhämoglobin von dem Gewichte der Albuminstoffe + Oxyhämoglobin des ganzen Blutes, wie es in der ersten Portion ermittelt wurde, ab, der Rest ergiebt dann den Gehalt des Blutes an Serumalbuminstoffen. Das Verhältniss vom Serum zu den in ihm enthaltenen Albuminstoffen ergiebt sich aus der Untersuchung des Serums der vierten aufgefangenen Blutportion, man berechnet daraus den Serumgehalt in 100 Grm. Blut; dieser + Fibrin ergiebt das Gewicht des Plasma und letzteres von 100 subtrahirt das Gewicht der feuchten Blutkörperchen.

So umständlich diese Methode ist, empfiehlt sie sich durch leichte Ausführung und Genauigkeit, aber sie ist nur dann anwendbar, wenn die Blutkörperchen in dem mit oben beschriebener Chlornatriumlösung gemischten defibrinirten Blute sich so vollkommen absetzen, dass eine klare und baldige Trennung von der Flüssigkeit durch Abgiessen derselben ermöglicht ist. Sie ist daher besonders brauchbar bei der Analyse von Vogel-, Amphibien-, Fischblut; nicht geeignet ist sie für das Blut von Wiederkäuern und Schweinen. Für Menschenblut eignet sie sich meist gut. Man kann es nur bei Menschen und Säugethieren

oft nicht vorauswissen, wie die Blutkörperchen sich verhalten werden. Hat man aber Grund zu vermuthen, dass die Blutkörperchen sich nicht gut absetzen werden, so verfährt man ganz in der gleichen Weise, wie es oben angegeben ist, nur ist die dritte Portion Blut womöglich etwas grösser (etwa 50 CC.) zu nehmen. Das weitere Verfahren giebt der folgende Paragraph.

III. Bestimmung des Gewichtes der nassen Blutkörperchen im Blute mittelst Farbenvergleichung von Blutlösung und Blutkörperchenlösung.

273. Allgemeiner anwendbar zur Bestimmung des Gewichtes der nassen Blutkörperchen, resp. ihres Wassergehalts, als das im vorigen Paragraphen beschriebene Verfahren, aber auch weniger genau, ist die folgende Methode, welche auf doppelter Anwendung der Farbenvergleichung nach § 269 oder § 270 beruht. Ebenso wie es im vorigen Paragraphen geschildert ist, werden 4 Portionen Blut gesondert aufgefangen, die dritte derselben, wenn es möglich ist, mindestens zu 30—50 CC., die erste Portion im bedeckten Becherglase gewogen, die vierte bedeckt stehen gelassen, dann das Serum abgegossen, gewogen und nach § 263 untersucht. Die erste Portion wird wie das Serum mit Weingeist gefällt u. s. w. zur Bestimmung der Summe des Oxyhämoglobin und der Eiweissstoffe des ganzen Blutes.

Die zweite und ebenso die dritte werden im Fibrinapparate, vergl. § 267, Fig. 16, aufgefangen, bedeckt, geschlagen, gewogen, die zweite mit Wasser, die dritte mit verdünnter Kochsalzlösung (1 Volumen gesättigte Kochsalzlösung mit 9—15 Volumen Wasser vorher gut gemischt) versetzt.

Nach gutem Zusammenrühren mit dem Wasser wird in der zweiten Portion durch Abgiessen der Lösung, Sammeln des Fibrin auf dem Filter, Waschen desselben u. s. w., wie es in § 267 beschrieben ist, das Fibrin bestimmt, die gesammten Filtrate vereinigt, gut gemischt, das Volumen gemessen, eine Portion davon, die mindestens 10 CC. Blut entspricht, genau abgemessen, mit überschüssigem Weingeist gefällt und im Niederschlage nach § 263 die Albuminstoffe + Oxyhämoglobin bestimmt. Mittelst der übrigen Lösung wird durch Farbenvergleichung nach § 269 oder § 270 der Gehalt an Oxyhämoglobin im Blute bestimmt. Die mit Kochsalzlösung versetzte und gut zusammengerührte dritte Blutportion wird bedeckt einen Tag an einem kühlen Orte stehen gelassen, dann die Flüssigkeit so weit als es ohne zu be-

deutenden Verlust an Blutkörperchen ausführbar ist, von dem aus Fibrin und Blutkörperchen bestehenden Niederschlage abgegossen. Der rückständige Blutkörperchenbrei wird abermals mit einer grösseren Portion verdünnter Chlornatriumlösung zusammengerührt, nach eintägigem Stehen vom Niederschlage abgegossen, dieselbe Procedur noch einmal wiederholt und hierbei die Flüssigkeit möglichst vollkommen abgegossen. Der Verlust an Blutkörperchen ist bei diesem Auswaschen bei verschiedenen Blutarten sehr verschieden, niedrige Temperatur ist durchaus erforderlich und längeres als höchstens zweitägiges Stehen zur besseren Senkung zu widerrathen, weil es sich dann leicht ereignen kann, dass im Niederschlage dunkle Flecke entstehen, in denen die venös gewordenen Blutkörperchen zusammengeschmolzen sind (wobei sich etwas Fibrin bildet) und deren nochmalige Behandlung mit Salzlösung nicht ausführbar ist, ohne dass etwas Blutkörpercheninhalt in Lösung übergeht. Der durch das Waschen mit Salzlösung gereinigte Blutkörperchenbrei wird dann mit destillirtem Wasser übergossen, gut umgerührt, von dem zurückbleibenden Fibrin abgegossen. Von dieser Lösung ist nun 1) ein nicht zu geringer Theil genau abzumessen, im Becherglase mit überschüssigem Weingeist zu fällen und darin nach § 263 das Gewicht des Oxyhämoglobin + Albuminstoffe zu bestimmen; 2) in der übrigen Flüssigkeit nach § 269 oder § 270 durch Farbenvergleichung mit einer reinen frisch bereiteten Hämoglobinlösung der Hämoglobingehalt bestimmt. Beide ermittelten Werthe werden für 100 CC. Lösung berechnet und durch Subtraction der Oxyhämoglobinprocente von den Oxyhämoglobin- + Albuminprocenten werden dann die Procente von Albuminstoffen in der Blutkörperchenlösung erhalten. Unter der gewiss nicht gewagten Voraussetzung nun, dass beim Auswaschen der Blutkörperchen mit Salzlösung keine Eiweissstoffe in bemerkbarer Quantität in die Lösung übergehen (einige in dieser Richtung angestellte Versuche bestätigen die Richtigkeit dieser Annahme), würde durch die beschriebenen Bestimmungen in der Blutportion III das Verhältniss ermittelt sein, in welchem Oxyhämoglobin und Eiweissstoffe in den Blutkörperchen enthalten sind.

Es war nun ferner in der Blutportion I der Gehalt des Blutes an Oxyhämoglobin + gesammten Eiweissstoffe der Blutkörperchen so wie des Plasma bestimmt, in der Blutportion II der Gehalt des Blutes an Farbstoff und an Fibrin ermittelt, auch diese Werthe sind sämmtlich für 100 Grm. oder 100 CC. Blut zu berechnen; die Portion III giebt

das Verhältniss von Farbstoff zu den Eiweissstoffen der Blutkörperchen — es sind somit alle zur Berechnung des Gehaltes an Oxyhämoglobin, Eiweissstoffen der Blutkörperchen und Eiweissstoffen des Plasma im Blute erforderlichen Elemente bekannt (es würde überflüssig sein, für diese einfache Rechnung eine Formel aufzustellen).

Sind nun ausserdem nach § 263 in der Blutportion I sowie im Serum die sämmtlichen übrigen festen Stoffe bestimmt und für 100 Grm. Flüssigkeit berechnet, so ist hiernach auch der Procentgehalt des ganzen Blutes und seines Plasma (Serum + Fibrin) an Wasser bekannt und man erhält schliesslich die den Blutkörperchen zugehörige Wassermenge, wenn man die entsprechend der Analyse des Serum den Serumalbuminstoffen im Blute zugehörige Wasserquantität von dem gesammten Procentgehalte des Blutes an Wasser subtrahirt.

Diese allerdings umständliche, sehr zeitraubende und doch theilweise zur Verhütung von Zersetzungen schnell auszuführende Methode der Bestimmung der wichtigsten Bestandtheile der Blutkörperchen ist, wie ersichtlich, ganz allgemein anwendbar und leidet nur an den bis jetzt noch unvermeidlichen Ungenauigkeiten, welche an den Blutfarbstoffbestimmungen haften.

Die Gesammtblutanalyse.

274. Nachdem in den vorhergehenden Paragraphen die Methoden der Bestimmung des Fibrin, des Oxyhämoglobin und der nassen Blutkörperchen bereits ausführlich beschrieben sind, ist über die gesammte Blutanalyse nur wenig noch hinzuzufügen.

Bestimmt man im Blutserum der vierten Blutportion (vergl. § 273) sowie in dem ganzen Blute der ersten Blutportion ausser den Albuminstoffen noch nach dem in § 263 beschriebenen Verfahren die Gewichte der Extractivstoffe und Fette, der löslichen und unlöslichen Salze, so sind damit alle die Werthe ermittelt, die zur Berechnung der Zusammensetzung des Blutes im Allgemeinen erforderlich sind.

Ist nämlich zunächst gemäss dem in § 272 oder § 273 beschriebenen Verfahren bestimmt, wie gross der Gehalt an Serum in 100 Grm. Blut ist, so ergiebt sich aus der procentischen Zusammensetzung des Serum, wie viel lösliche, wie viel unlösliche Salze, wie viel Fette und wie viel Extractivstoffe diesem Serum in 100 Grm. Blut zugehören. Zieht man aber diese Werthe von dem Gehalte des ganzen

Blutes an diesen einzelnen Stoffen ab, so bleibt als Rest der Gehalt der Blutkörperchen an jedem dieser Stoffe in 100 Grm. Blut.

Obwohl dem Verf. fertige Analysen nach allen angegebenen Methoden ausgeführt, von Hunde-, Gänse-, Hühnerblut vorliegen, scheint es doch rathsam, von der Anführung von Beispielen für die Bestimmung der nassen Blutkörperchen und die gesammte Blutanalyse abzustehen, da solche Beispiele übersichtlich nicht gemacht werden könnten, als dadurch, dass man eine Blutanalyse fingirte, in welcher Fibrin-, Hämoglobingehalt u. s. w. als einfache ganze Zahlen auftreten. Wer selbst Blutanalysen ausführen will, wird an dem Gesagten genügende Anleitung für die Ausführung der Arbeiten und die nachherige Berechnung der Resultate finden, er wird aber auch die Schwierigkeiten kennen lernen, die in allerlei Einzelnheiten und Kleinigkeiten einer Blutanalyse sich überall in den Weg stellen und zu deren Ueberwindung Geschicklichkeit und Umsicht erforderlich sind, die man schwerlich schon zum ersten Versuche mitbringt; es misslingen viele Bestimmungen.

Bestimmung der Quantität des Blutes, welches ein Thier enthält.

275. Aus einem grösseren Blutgefässe lässt man am Besten in einen Fibrinapparat (vergl. § 267) eine Quantität Blut von 30 bis 50 CC. einfliessen, bedeckt mit der Kautschukkappe, schlägt das Blut und wägt es in diesem Gefässe. Das sämmtliche übrige Blut, welches aus den geöffneten Gefässen zum Ausfliessen gebracht werden kann, wird in einem hinreichend grossen Glase aufgefangen und geschlagen. Das Blut, welches in der Wunde geblieben ist, wird mit Wasser abgewaschen und unter Vermeidung jeden Verlustes zu dem nicht gewogenen geschlagenen Blute gebracht. Darauf zerkleinert man das ganze Thier auf einer Schüssel, entfernt Speisereste und Koth aus dem Darme, sowie die Gallenblase oder wenigstens deren Inhalt und zieht nun die zerkleinerte Masse so lange mit erneuten Portionen kalten Wassers aus, als dies noch deutliche rothe Färbung annimmt. Die Knochen werden zu dem Zwecke zunächst herauspräparirt und dann in einem eisernen Mörser gut zerstossen. Die gesammelten Waschflüssigkeiten durch Leinwand filtrirt, werden mit dem nicht gewogenen Blute gemischt, das Volumen der Mischung gemessen, eine Portion derselben in einen Glaskasten des in § 269 Fig. 17 dargestellten Apparates gebracht.

Von der abgewogenen Blutportion im Fibrinapparate bestimmt man dann entweder mit dem Pycnometer das spec. Gewicht oder misst direct das Volumen, verdünnt es dann mit dem neunfachen Volumen Wasser, lässt 10 CC. dieser Mischung in den anderen Glaskasten des in Fig. 17 § 269 dargestellten Apparates einfliessen und

verdünnt dasselbe, indem man cubikcentimeterweise Wasser aus einer Bürette hinzufliessen lässt und mit einem Fischbeinstäbchen mischt, bis die Färbung der Flüssigkeiten in beiden Glaskästen gleich ist. Ist die Färbung noch ziemlich dunkel, so verdünnt man die erstere Flüssigkeit (Blut und Waschwasser der Organe) mit gemessener Quantität Wasser und wiederholt diese Bestimmung. Haben aber beide Flüssigkeiten gleiche Farbe, so enthalten sie auch gleichen Procentgehalt an Blut; da nun von der einen der Procentgehalt bekannt ist und das Volumen sowie das Gewicht des Blutes, aus welchem sie gewonnen wurde, so erhält man als Product des Procentgehaltes und des gemessenen Volumens von dem Gemisch der Waschflüssigkeit und des Blutes auch den Gehalt dieser Flüssigkeit an Blut. Addirt man dann die gewogene und gemessene Quantität Blut, die zuerst aufgefangen wurde, zu dieser übrigen Portion Blut, so erhält man das Gesammtgewicht und Volumen des Blutes vom ganzen Thiere.

Die Ausführung dieser Untersuchung ist ziemlich umständlich, aber diese Methode, die im Wesentlichen von Welcker*) zuerst angegeben ist, bietet allein die Sicherheit für einigermassen richtige Bestimmung, da das Blut allein Oxyhämoglobin und die übrigen Organe keine die Waschflüssigkeit färbenden Stoffe enthalten**). Mag nun auch der Gehalt an Blutkörperchen nicht in allen Gefässprovinzen der gleiche sein, so ist diese Verschiedenheit doch nachweisbar eine sehr unbedeutende.

Statt das Thier nach dem Verbluten gleich zu zerkleinern, hat Gscheidlen***) die Adern mit einer wässerigen Chlornatriumlösung von $^1/_2$ pCt. Gehalt ausgespritzt, bis die Lösung farblos aus der geöffneten Vene abfloss. Den im Fleische nachher noch gefundenen Oxyhämoglobingehalt bezieht er auf die Muskeln. Endlich vergiftete Gscheidlen die Thiere zuerst mit Kohlenoxyd und sättigte nachher die Blutlösung noch mit diesem Gase. Heidenhain†) machte zuerst die colorimetrische Bestimmung im arteriellen Zustande der Lösungen, wiederholte die Vergleichung dann nach Entfernung des Sauerstoffs, und sah das Mittel aus beiden Bestimmungen als den richtigsten

*) Prager Vierteljahrsschr Bd 4. S. 11.

**) Nur das Herz und einige andere Muskeln enthalten in ihrer Substanz ausserhalb der Blutgefässe ein wenig Hämoglobin.

***) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 7. S. 530.

†) Arch f physiol Heilk N F. Bd. 1. S 507.

Werth an. Die von Brozeit*) ausgeführte Methode der Wägung des Hämatin giebt keine guten Resultate.

Die sämmtlichen übrigen vorgeschlagenen Methoden, die den Zweck der Bestimmung des Blutgewichtes oder Blutvolumens eines Thieres verfolgen, müssen ihrer nachweisbaren grossen Fehlerquellen wegen hinter der obigen nicht allein zurückstehen, sondern sind sogar als total unbrauchbar zu verwerfen.

Die farblosen Blutzellen.

276. Da man auf keine Weise bis jetzt die farblosen Blutzellen isoliren kann, ist es die einzige Möglichkeit, über ihre Zusammensetzung dadurch etwas zu erfahren, dass man ein an diesen Zellen reiches Blut in der chemischen Zusammensetzung mit einem an denselben armen Blute vergleicht, ohne dass diese Vergleichung in der Beziehung eine Sicherheit böte, dass nicht in dem an farblosen Zellen reichen Blute auch das Plasma andere Zusammensetzung habe. Die Senkung der farblosen Blutzellen geht langsamer vor sich, als die der rothen Blutkörperchen, wenn daher sich eine crusta inflammatoria bei der Gerinnung des Blutes bildet, so enthält dieselbe viel Lecithin durch warmen Alkohol ausziehbar und unter dem Mikroskope zeigt sich, dass das Fibrin in der crusta viele farblose Blutzellen einschliesst. Ist das Blut reich an farblosen Blutzellen, so werden auch die in der Agone vor dem Tode im Herzen ausgeschlagenen Fibringerinnsel so reich an diesen Zellen, dass sie milchig oder eiterig trübe und sehr locker zerreiblich erscheinen. Die Untersuchung dieser Gerinnsel im Vergleich mit der des Serum von demselben Blute könnte Aufschluss über die Zusammensetzung der farblosen Blutzellen geben. Eine solche Untersuchung ist jedoch noch nicht bekannt. Um über den Gehalt des Blutes an farblosen Zellen Aufschluss zu erhalten, begnügt man sich, in einem Tröpfchen dieses Blutes unter dem Mikroskope durch Zählung das Verhältniss der farblosen Blutzellen zu den farbigen Körperchen zu ermitteln.

Die rothen Blutkörperchen von Menschen und Säugethieren enthalten so wenig als das Plasma Nuclein, dasselbe tritt aber nach Kossel's Untersuchungen im leukämischen Blute reichlich auf. Durch Bestimmung der dem Nuclein zugehörenden Phosphorsäure in den genannten Blutarten nach Kossel's Methode (vergl. unten Untersuchung

---

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 3. S. 353.

der Muskeln und Drüsen) wird man einen Ausdruck für die Menge der enthaltenen farblosen Blutkörperchen erhalten können, wenn für mehrere Blutportionen von verschiedenem Gehalt an farblosen Zellen 1) die Phosphorsäure des Nucleingehaltes, 2) die Zahl der farblosen Zellen in der Volumeneinheit bestimmt sind.

IV. Untersuchung der Secrete.

Allgemeines.

277. Die Untersuchung der Secrete ist in chemischer Beziehung noch wenig vorgeschritten, mit Ausnahme der Galle kennen wir von den Verdauungssecreten wohl eine Anzahl chemischer Actionen als Fermentwirkungen, aber kaum eins dieser Fermente ist isolirt dargestellt und die Zusammensetzung der Secrete ist nur ungenügend erforscht. Es kann daher auch nicht die Aufgabe dieser Anleitung sein, ausführliche Methoden zu ihrer Untersuchung zu geben, da deren Auffindung der Zukunft vorbehalten bleibt; ausser der Zusammensetzung, soweit dieselbe ermittelt ist, sollen im Folgenden nur diejenigen Reactionen durchgegangen werden, durch welche diese Secrete in physiologischer und pathologischer Hinsicht Interesse erregt haben, und nur für die Galle und die Milch, die einzigen dieser Secrete, welche nicht sehr wässerig und dabei leicht in grösserer Menge zu beschaffen sind, können bestimmte Methoden der Untersuchung angegeben werden.

Die Untersuchung der anorganischen Stoffe in den Secreten, auch die Prüfung auf Fette, Zucker und andere derartige in den Organen verbreitete Stoffe können in den Secreten, so weit nicht bei dem einzelnen Secrete die Untersuchungsmethode speciell beschrieben ist, nach den Verfahren ausgeführt werden, welche für die serösen Flüssigkeiten in den §§ 258—263 beschrieben sind.

Die Secrete der Speicheldrüsen.

Parotidensecret.

278. Das normale Secret der Parotis stellt bei Menschen und Thieren, so weit es bis jetzt untersucht ist, stets eine wasserklare Flüssigkeit dar, welche wie Wasser tropft, also durchaus nichts Schleimiges hat, alkalisch reagirt, beim Kochen und ebenso bei gewöhnlicher Temperatur beim Stehen an der Luft unter Abschei-

dung eines feinen Niederschlags von kohlensaurem Kalk mit wenig Albuminstoff sich trübt. Durch hinreichenden Zusatz von Salpetersäure, ebenso durch Essigsäure und Ferrocyankalium wird aus dem Parotidensecrete ein Albuminstoff gefällt, dessen nähere charakterisirende Reactionen noch nicht erkannt sind. Besonders reichlich findet sich verhältnissmässig dieser Albuminstoff im Pferdeparotidenspeichel. Eine oder mehrere flüchtige fette Säuren, auch etwas Harnstoff werden als Bestandtheile des Parotidensecretes angegeben und von anorganischen Stoffen ausser dem kohlensauren Kalk, der vielleicht in der frisch secernirten Flüssigkeit als doppelt kohlensaures Salz enthalten ist, Kali und Natron an Schwefelsäure, Phosphorsäure und Salzsäure gebunden. Die Chlormetalle sind am Reichlichsten darin enthalten, aber der Gehalt an anorganischen Stoffen ist in diesem Secrete nicht höher als zu 0,3 — 1,0 pCt. angegeben; auch die organischen Stoffe betragen nach den meisten Analysen kaum 0,5 pCt. Menschlicher Parotidenspeichel enthält sehr oft Schwefelcyankalium.

Submaxillardrüsen- und Sublingualdrüsensecret.

279. Das menschliche Submaxillardrüsensecret ist eine alkalisch reagirende, schleimige, fadenziehende Flüssigkeit, welche im normalen Zustande wenig Speichelkörperchen enthält. Mucin, geringe Menge eines Albuminstoffes, Schwefelcyansäure und ein Amylum in Zucker umwandelndes Ferment sind darin nachgewiesen. Bei Stagnation im Drüsengange wird das Secret trübe bei reicherem Gehalte an Speichelkörperchen. Der Submaxillarspeichel vom Hunde ist gleichfalls stets alkalisch, mehr oder weniger fadenziehend, enthält Mucin neben einem oder mehreren Eiweissstoffen, zeigt höchst unbedeutende Einwirkung auf Stärkemehl, wenn sie überhaupt eintritt. Je nach den Verhältnissen, unter denen der Speichel secernirt wird und nach den Eigenthümlichkeiten des Secretes selbst unterscheidet man Chordaspeichel, Sympathicusspeichel und paralytischen Speichel. Der bei elektrischer Reizung der chorda tympani oder bei Reizung der Zunge durch Säuren abgeschiedene Speichel ist nur wenig fadenziehend, dünnflüssig, giebt beim Durchleiten von Kohlensäure eine Trübung, die beim Schütteln mit Luft wieder verschwindet. Beim längeren Stehen scheidet sich neben amorpher eiweissartiger Substanz ein feinkrystallinischer Niederschlag von kohlensaurem Kalk ab. Der bei elektrischer Reizung des Sympathicus oder bei Reizung der Zunge mit Alkalien oder mit Pfeffer abgeschiedene Speichel ist sehr zäh,

schleimig, enthält Klümpchen von Schleim, erweist sich auch bei Essigsäurezusatz reich an Mucin, enthält mehr feste Bestandtheile als der Chordaspeichel, reagirt stark alkalisch, ist aber noch wenig untersucht. Noch weniger untersucht ist der sehr wässrige Speichel, der bei Curarevergiftung der Drüse oder nach Durchschneidung sämmtlicher Drüsennerven secernirt wird.

Der Speichel der Sublingualdrüse ist noch zäher, schleimiger als das Submaxillardrüsensecret, reagirt auch alkalisch; da sehr wenig aus der kleinen Drüse secernirt wird, ist das Secret noch wenig untersucht.

Gemischter Mundspeichel.

Bestimmung des Schwefelcyansäuregehaltes u. s. w.

280. Der Speichel, wie er beim Offenhalten des Mundes unter Vermeidung des Schlingens ausfliesst, ist ein ungleichförmiges theils tropfbar flüssiges, theils zähschleimiges Gemenge der drei in den letzten Paragraphen beschriebenen Secrete und der geringen schleimigen, von der Schleimhaut des Mundes und deren Drüschen secernirten Flüssigkeit. Ausser einer trübenden Beimengung von losgestossenem Epithel der Mund- und Zungenschleimhaut finden sich darin kleinere rundliche Speichelkörperchen. Die Reaction, gewöhnlich und besonders nach dem Essen stets alkalisch, kann bei längerem Nüchternsein und besonders nach vielem Sprechen sauer werden.

Der normale Speichel giebt Trübungen oder flockige Niederschläge durch Kochen, ebenso durch Zusatz von Alkohol; Salpetersäure, essigsaures Bleioxyd, Quecksilberchlorid, Gerbsäure, Essigsäure. Der Speichel einiger Thiere (z. B. Pferd) trübt sich stark beim Stehen an der Luft, der des Menschen und mancher Thiere weniger, doch enthält er stets etwas kohlensauren Kalk.

Sehr häufig enthält der gemischte Speichel so wie das Parotidensecret des Menschen Schwefelcyansäure; der Nachweis derselben wird durch die § 101 angegebenen Reactionen direct im Speichel geliefert.

Zur quantitativen Bestimmung der Schwefelcyansäure wird*) die nicht zu kleine gewogene Speichelquantität bei mässiger Temperatur verdunstet, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen, filtrirt, das Filtrat verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst, mit Salpetersäure angesäuert, mit Silbernitrat gefällt, so lange Niederschlag entsteht, der

*) Munk, Arch. f. pathol. Anat. Bd 69. S. 350.

Niederschlag abfiltrirt, getrocknet, mit Soda und Salpeter geglüht, die Schmelze in Wasser gelöst, filtrirt, mit Salpetersäure übersättigt und durch Chlorbarium die Schwefelsäure gefällt, das Bariumsulfat endlich auf kleinem Filter gesammelt, getrocknet, geglüht und gewogen. 1 Gewichtstheil $BaSO_4$ entspricht 0,2532 Gewichtstheilen CNSH.

Ungefähre Bestimmung des Gehaltes an Schwefelcyansäure kann man auf folgendem Wege erreichen: Eine getrocknete und gewogene Quantität Schwefelcyankalium (etwa 0,05 Grm. davon) löst man in Wasser, fügt Eisenchlorid hinzu, bis die Lösung auf weiteren Zusatz eines Tropfens keine weitere Dunkelfärbung mehr erfährt, und misst das Volumen der Lösung. Man bringt dann die gemessene Menge des zu untersuchenden Speichels in einen der in Fig. 17 § 269 abgebildeten Glaskästen und fügt auch hierzu tropfenweise Eisenchlorid und ein Wenig Salzsäure unter Umrühren, so lange Rothfärbung stattfindet, bestimmt die dadurch bewirkte Vergrösserung des Volumen des Speichels, bringt einige Cubikcentimeter der mit Eisenchlorid gerötheten Schwefelcyansäurelösung genau abgemessen in den anderen Glaskasten und verdünnt mit gemessenen Mengen Wasser cubikcentimeterweise, bis die Farbe der Flüssigkeiten in beiden Glaskästen gleich ist. Es ist nun leicht, aus der Menge der in den zweiten Glaskasten gebrachten Schwefelcyanlösung und ihrer Verdünnung zu berechnen, wie gross ihr Procentgehalt an Schwefelcyansäure ist, und wenn der des Speichels ihr gleich ist, so ergiebt der Procentgehalt multiplicirt mit der Quantität des Speichels die absolute Quantität Schwefelcyansäure, welche sich in der gemessenen Menge des Speichels befindet.

Solera*) hält die Jodsäure für das feinste Reagens auf Schwefelcyanverbindung im Speichel; fügt man sie zu Speichel, so färbt er sich gelb und giebt mit Stärkekleister blaue Färbung. Diese Reduction von Jod wird nach seinen Versuchen im Speichel nur durch Schwefelcyanverbindung bewirkt.

Schoenbein**) hat gefunden, dass der gemischte Speichel gewöhnlich, jedoch nicht immer salpetrigsaures Salz enthält. Um darauf zu prüfen, versetzt man gekochten Stärkekleister mit etwas Jodkalium und fügt nach Umschütteln einige Tropfen verdünnte Schwefelsäure hinzu. Enthält der Speichel salpetrige Säure, so giebt er mit dieser Mischung sofort blaue Jodstärke.

---

*) Jahresber. f. Thierchemie v. Maly, Bd. 7. S. 256.

**) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 86. S. 151.

Der gemischte Speichel besitzt die Fähigkeit, Stärke in Dextrin und Zucker zu verwandeln; doch ist auch diese Eigenschaft des gemischten Speichels keine constante und insbesondere wirkt der kurz nach dem Essen secernirte Speichel oft nur langsam auf Stärke ein. Die Geschwindigkeit der Umwandlung der Stärke ist abhängig vom Grade der Quellung der letzteren, der Qualität und Quantität des Speichels, der guten Mischung der Flüssigkeiten und der Temperatur; bei Bluttemperatur geht die Umwandlung weit schneller vor sich als bei gewöhnlicher Temperatur.

Ob ein Speichel im Stande ist, aus Stärke Zucker zu bilden, prüft man dadurch, dass man Amylum mit viel Wasser kocht, erkalten lässt und 1 Theil Speichel mit etwa 10 Theilen Stärkelösung mengt. Man prüft eine Portion der Mischung nach einigen Minuten, nach $^1/_4$ Stunde eine zweite Portion u. s. w. durch die Trommer'sche Probe (vergl. oben S. 121); da das Amylum das Kupferoxydhydrat nicht verändert, so ergiebt die eintretende Reaction die Anwesenheit von Dextrin und Zucker. Um quantitativ die gebildete Maltose zu bestimmen, fällt man die Mischung von Speichel und Amylumlösung mit Alkohol, verdunstet das Filtrat, extrahirt den Rückstand mit absolutem Alkohol, verdunstet die filtrirte Lösung, löst den Rückstand in Wasser. Nachdem dann das Volumen dieser Lösung bestimmt ist, titrirt man mit einem Theil derselben 5 oder 10 CC. Fehling'scher Lösung nach § 248. Die übrige gemessene Lösung versetzt man mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure, kocht kurze Zeit, lässt erkalten, neutralisirt mit Natriumcarbonat, bringt wieder auf das frühere Volumen und titrirt abermals 5—10 CC. Fehling'scher Lösung. Das Ende der Titrirung wird jetzt durch weniger Flüssigkeit erreicht als vor dem Kochen mit Schwefelsäure und der Unterschied lässt nach § 90 berechnen, wie viel Maltose und wie viel Traubenzucker in der Lösung war.

Die Umwandlung des Glycogens durch Speichel in Zucker ist der Umwandlung des Amylum völlig analog.

Ueber die Isolirung des Körpers, welcher die Verwandlung von Amylum in Zucker und Dextrin bewirkt, vergl. § 197.

Mit dem Namen Ptyalin hat man Schleim- oder Albuminstoffe bezeichnet, die durch Alkohol gefällt werden, sich in Wasser auch nach dem Eindampfen mit überschüssiger Essigsäure zur Trockne wieder auflösen und bald mit Quecksilberchlorid oder Bleiessig Niederschläge gegeben haben, bald nicht; sie sind eben noch unzureichend untersucht.

Untersuchung des Mundspeichels in Krankheiten.

281. In fieberhaften Krankheiten tritt zwar keine bekannte qualitative Aenderung der Zusammensetzung des Speichels ein, aber die Quantität ist bedeutend verringert, vielleicht stockt die Secretion oft gänzlich, daher die Trockenheit des Mundes und Rachens, belegte Zunge, veränderter Geschmack u s. w.

Der Speichel bei Jod- und Mercursalivation enthält reichliche Beimengung der Secrete der katarrhalisch entzündeten Mund- und Rachenschleimhaut, deswegen giebt derselbe beim Kochen unter Zusatz von etwas Säure meist reichliche Gerinnung besonders bei Mercurialsalivation und enthält über 0,7 pCt. anorganische Salze, während der normale Speichel viel geringeren Salzgehalt besitzt.

Blutkörperchenbeimengung findet sich bei Entzündung des Zahnfleisches und anderer Theile des Mundes, auch der Nase häufig. Man erkennt sie am Besten mikroskopisch, aber auch im Spectrum ist sie nach § 191 gut zu erkennen.

Bei Icterus scheint der Speichel stets von Gallenfarbstoffen frei zu bleiben (nur Wright giebt Gallenfarbstoff bei Icterus an). Im Speichel von Diabetikern ist nie Zucker, aber oft saure Reaction, in einem Falle nach Lehmann durch freie Milchsäure bedingt gefunden.*) Saure Reaction des Speichels hat sich auch bei Digestionsstörungen häufig gezeigt, bei fieberhaften Zuständen resultirt sie offenbar aus dem Mangel an Secretion der eigentlichen Speicheldrüsen. Leucin ist einmal im Speichel einer Hysterischen gefunden.

Die Reactionen und Darstellungsmethoden, welche zur Auffindung des Gallenfarbstoffs, der Milchsäure, des Leucin u. s. w. führen, sind in der dritten Abtheilung bei der Abhandlung dieser einzelnen Körper hinreichend besprochen und überhaupt kann man in Hinsicht auf diese qualitativen Untersuchungen als auch bezüglich der quantitativen Bestimmungen, z. B. des Harnstoffs, den Speichel in der gleichen Weise behandeln, wie es oben für die serösen Flüssigkeiten, Blutserum, Transsudate u. s. w. angegeben ist.

Speichelsteine, Zahnstein.

282. Bei Menschen und Säugethieren werden oft Concremente in den Speichelgängen gefunden, die man als Speichelsteine bezeichnet

---

*) In saurem Parotidensecrete von einem Diabetiker fand Limpricht keine Milchsäure. Berlin. klin. Wochenschr. 1866. No. 16.

hat. Sie bestehen fast immer im Wesentlichen aus kohlensaurem Kalk, enthalten jedoch dabei etwas Kalkphosphat und eine Albuminsubstanz in verschiedener Menge, die nicht hinreichend untersucht ist. Die Speichelsteine sind, wenn nicht mehrere neben einander liegen und sich gegenseitig abschleifen, rundlich, meist hart und schwer, weiss oder gelblich. Zu ihrer Untersuchung zerreibt man ein Stück in der Reibschale und löst in Salzsäure. Der kohlensaure Kalk löst sich neben dem phosphorsauren Kalke unter Aufbrausen, die organische Substanz bleibt zurück und wird abfiltrirt; das Filtrat wird wie die salzsaure Lösung einer Asche nach § 204 untersucht. Zur quantitativen Bestimmung wäscht man das abgewogene Pulver mit kochendem Wasser, filtrirt durch gewogenes Filter, trocknet, wägt wieder, verascht mit dem Filter, fügt zur Asche nach dem Erkalten etwas Lösung von kohlensaurem Ammoniak, trocknet, erhitzt zum beginnenden Glühen, bedeckt und wägt nach dem Erkalten. Man ermittelt auf diese Weise die in Wasser löslichen Substanzen, die Gewichte der organischen und der anorganischen Bestandtheile des Steins. In den geglühten Salzen bestimmt man nach den für die Aschen gegebenen Vorschriften § 206—216 Kohlensäure, Phosphorsäure, Kalk u. s. w.

Der Zahnstein, welcher sich an schlechten Zähnen bei Menschen und alten Hausthieren absetzt, besteht aus denselben Bestandtheilen als die Speichelsteine, enthält aber mehr phosphorsauren Kalk und schliesst viele Spaltpilze ein. Er wird auf dieselbe Weise untersucht, wie die Speichelsteine.

Untersuchung des Nasensecretes.

283. Aus den seitherigen spärlichen Untersuchungen des Secretes der Nasenschleimhaut geht soviel hervor, dass dasselbe neben einem relativ reichlichen Gehalte an Mucin, Schleimkörperchen und Resten von Epithelzellen nur 1—3 pCt. Extractivstoffe und 0,5—0,6 pCt. anorganische Salze enthält. Je mehr katarrhalisches Transsudat bei Entzündungen sich beimengt, desto mehr tritt der Schleimgehalt zurück, während ein Gehalt an Albumin sich zeigt und (nachweisbar durch Essigsäure und Ferrocyankalium oder Salpetersäure) und der Gehalt an anorganischen Salzen bis gegen 1 pCt. steigt. Wird das Secret eitrig, so nimmt der im normalen Nasenschleim äusserst geringe Gehalt an Aetherextractrückstand beträchtlich zu. Die qualitativen und quantitativen Untersuchungen des Nasensecretes werden wie

die der serösen Flüssigkeiten (vergl. §§ 256—263) ausgeführt. Nasensteine werden wie Speichelsteine untersucht.

Untersuchung der Sputa.

284. Während die mikroskopische Untersuchung der Sputa sehr wichtige pathognomonische Befunde geliefert hat, ist die chemische Erforschung derselben noch nicht weit gediehen. Die gewöhnlichen katarrhalischen Sputa zeigen dieselben Eigenschaften und dieselbe Zusammensetzung als das katarrhalische Nasensecret, sie geben durch ihr Verhalten gegen Essigsäure ihren Gehalt an Mucin, durch das Verhalten gegen Salpetersäure und beim Kochen ihren Albumingehalt zu erkennen, aber nur der acute Katarrh liefert immer albuminhaltiges Secret in dem Stadium lebhatter Transsudation. Wichtig sind besonders die sanguinolenten Sputa der Pneumonien, die pigmentirten Sputa chronischer Katarrhe, die Sputa bei Lungenbrand, Cavernen, Bronchektasien, welche freie fette Säure enthalten.

Die gelben oder rothen Blutkörperchen enthaltenden Sputa, im Stadium der pneumonischen Infiltration ausgeworfen, sind zäh gallertig-schleimig, durchscheinend, zeigen Gerinnung beim Erhitzen auf 100°, aus dem Gerinnsel zieht Essigsäure kleine Quantitäten eines Albuminstoffes aus, der vor der Behandlung in höherer Temperatur sich in Salzwasser zu lösen scheint und wohl der Gruppe des Myosins und der fibrinbildenden Substanzen angehört. Vielleicht spielt dieser Körper bei der Hepatisation der Lunge selbst eine bedeutende Rolle.

Die grünen Farbstoffe der Sputa, welche bei Icterus und Lungenkatarrh oder schleichender Pneumonie und acuter Pneumonie mit Icterus sich zeigen, vielleicht Zersetzungsproducte des Hämoglobins, sind noch nicht untersucht.

Die perlgrauen Sputa, welche bei chronischen trockenen Katarrhen häufig beobachtet werden, enthalten pigmentirte Zellen, deren Pigmente in alkalischer Lösung durch Chlor schnell gebleicht werden.

Erscheint ein Sputum grau oder schwärzlich und zweifelt man, ob nicht eingeathmete Kohlenpartikel (Lampenruss u. s. w.) diese Färbung bedingen, so löst man das Sputum in verdünntem Aetznatron und leitet einige Minuten Chlorgas ein, Kohle bleibt völlig unverändert, alle organischen Farbstoffe dagegen werden entfärbt. Eisenoxyd, Manganhyperoxyd würden erst entfärbt und gelöst werden, wenn man dann mit Salzsäure übersättigt und erwärmt.

Durch Fäulniss werden die Sputa in Brandhöhlen, Bronchektasien

und tuberkulöse Cavernen zersetzt unter Bildung gewöhnlicher Fäulnissproducte, der Albumin- und Schleimstoffe, des Lecithin und der Fette. Ausser Ammoniak und Schwefelwasserstoff erscheinen in der ausgeathmeten Luft offenbar flüchtige fette Säuren und die ausgeworfenen Sputa enthalten durch Zerlegung von Lecithin oder Fetten entstandene Krystalle von Palmitin- und Stearinsäure (in Aether leicht gelöst) als dünne, breite und biegsame Nadeln. Die leichter flüchtigen fetten Säuren trennt man durch Destillation mit verdünnter Schwefelsäure (vergl. § 71), die Palmitinsäure und Stearinsäure zieht man mit Aether aus, trennt sie dann von den Fetten durch Schütteln mit verdünnter Natronlauge und zerlegt die Seifen mit Salzsäure (vergl. § 84). Nicht selten finden sich in solchen Fällen die Charcot-schen Krystalle (vergl. oben S. 169).

Cholesterinkrystalle kommen in den Sputis zuweilen bei Durchbruch von Empyemen in die Lunge vor, ebenso sind Hämatoidinkrystalle in solchem Falle in den Sputis beobachtet.

Wenn Tyrosinkrystalle in einem Falle als Einschluss in den ausgeworfenen fibrinösen Bronchialgerinnseln bei chronischer croupöser Bronchitis angegeben werden, so ist zu bedauern, dass der Nachweis, dass diese Krystalle Tyrosin waren, nicht strict genug geliefert ist.

Untersuchung des Magensecretes und erbrochener Massen.

285. Der Magensaft, welcher sich vor allen übrigen Secreten durch seine intensiv saure Reaction auszeichnet, stellt eine wasserklare, nicht schleimige, sondern gut filtrirbare Flüssigkeit dar, die ausser freier Salzsäure oder Milchsäure saure phosphorsaure Salze, Pepsin und in allen Fällen wohl auch Beimengung von Peptonen enthält; wegen des Gehaltes an Peptonen zeigt er stets eine je nach der Concentration grössere oder geringere linksseitige Circumpolarisation.

Normaler menschlicher Magensaft aus Magenfisteln kommt jetzt nicht mehr sehr selten zur Untersuchung. Auch die meist reichlichen Ansammlungen in dilatirten Mägen, durch die Magenpumpe entleert, enthalten neben unverdauten Speisen (besonders amylumreiche) vielfach sehr gut verdauenden Magensaft. In der ersten Zeit nach Einnahme einer Mahlzeit enthält der Magen wohl Pepsin, aber keine freie Salzsäure, letztere tritt oft ziemlich spät auf. Im Erbrochenen fehlt die freie Salzsäure sehr oft, besonders bei fieberhaften Krankheiten, Magenkatarrh, Carcinom u. s. w. Im Mageninhalt von Leichen finden sich oft viel fette flüchtige Säuren und Milchsäure besonders bei sehr kleinen Kindern.

Prüfung auf freie Salzsäure im Magensaft und im Mageninhalt, Quantitative Bestimmung derselben.

286. 1) Prüfung durch Farbenreactionen. Von Reoch*) wurde zuerst aufmerksam gemacht auf das verschiedene Verhalten starker anorganischer Säuren gegenüber den meisten organischen Säuren in verdünnten Lösungen gegen eine Mischung von weinsaurem oder citronensaurem Eisenoxydsalz und Schwefelcyanammonium. Nur die anorganischen Säuren rufen blutrothe Färbung durch Bildung von Eisenrhodanid hervor, die organischen Säuren ändern dagegen die Farbe der Mischung nicht. Nach Szabó**) bedient man sich der Reoch-schen Reaction zur Prüfung des Magensaftes zweckmässig in folgender Weise. Man mischt gleiche Volumina $^1/_2$ procentiger Lösung von Rhodanammonium und $^1/_2$ procentiger Lösung von weinsaurem Eisenoxydnatron, bringt in 2 Probirgläser von gleichem Durchmesser je 1 CC. dieser Mischung, zu der einen Portion dann 0,6 CC. einer 1 p. M. HCl enthaltenden Salzsäure, zur anderen Portion allmälig kleine Quantitäten der filtrirten Magenflüssigkeit, bis die Farbe gleich der der anderen Portion geworden ist. Braucht man hierzu mehr als 0,6 CC., so fügt man zur Salzsäuremischung ebenso viel Wasser, weil mit der Verdünnung die Färbung sich ändert. Diese Prüfung ist, wie Szabó bemerkt, nicht genau.

Einige sehr empfindliche Farbstoffe: Methylanilinviolett, Tropäolin 00, auch Fuchsin sind von v. d. Velden***) zur Prüfung der Magenflüssigkeit auf freie Salzsäure verwendet. Besonders die erstgenannten beiden Farbstoffe sind sehr gut zur Unterscheidung freier Salzsäure bei grosser Verdünnung von organischen Säuren zu verwenden. Mässig violettgefärbte wässrige Lösung von Methylanilinviolett wird durch $^1/_{10}$ procentige Salzsäure blau, durch $^1/_5$ procentige grün gefärbt, durch 1 procentige entfärbt, durch 2—4 procentige Essigsäure dagegen nicht verändert, ebenso wenig durch Mononatriumphosphat. Man mischt die zu prüfende Flüssigkeit mit der Farbstofflösung und dampft nach Maly†) am besten im Porzellanschälchen auf 1—2 Tropfen ein. Ueber die Farbenänderungen des Tropäolin 00 vergl.

*) Journ. of anat. and physiol. 1874. p. 274.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. S. 152.

***) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 23. S. 31 u. Bd. 27. S. 389.

†) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. S. 189 u. Jahresber. f. Thierchemie v. Maly. Jahrg. 1880. S. 305.

oben S. 56. Tritt in einer Magenflüssigkeit die Farbenänderung ein, so ist sie auf freie Salzsäure zu beziehen, tritt sie dagegen nicht ein, so ist nur dann auf Abwesenheit von freier Salzsäure zu schliessen, wenn nur sehr wenig Eiweiss oder Pepton in der Flüssigkeit sich befinden, da diese die Aenderung des Farbstoffes durch Salzsäure sehr beeinträchtigen.

2) Aetherextraction nach Berthelot. Richet*) hat eine von Berthelot für andere Zwecke erfundene und verwendete Methode zur Prüfung des Magensaftes auf freie organische Säure benutzt. Schüttelt man in einem graduirten Cylinder 1 Vol. Aether, lässt einige Zeit stehen, filtrirt dann einen Theil der ätherischen Lösung und titrirt den Gehalt an Säure in der abgemessenen, durch theilweise Verdunstung concentrirten, dann mit Alkohol und Wasser versetzten Lösung mit Kalkwasser und titrirt ausserdem eine gemessene Portion der ursprünglichen Flüssigkeit, so findet man, dass anorganische Säuren wie Schwefelsäure, Salzsäure fast gar nicht in den Aether übergehen, wohl aber organische Säuren, und zwar ist der Theilungscoefficient, d. h. das Verhältniss der im Wasser vorhandenen zu der in den Aether übergegangenen Säuremenge, für die anorganischen Säuren eine sehr hohe Zahl, für die organischen Säuren eine stets viel niedrigere, aber für jede Säure eine bestimmte Zahl. Für die Milchsäure findet Richet das Verhältniss ungefähr = 10; für Essigsäure hatte Berthelot 1,4 gefunden. Nach dieser Methode findet Richet, dass der menschliche Magensaft frisch nur sehr wenig oder gar keine andere Säure als Salzsäure enthält. Lässt man den Magensaft stehen, so bildet sich allmälig mehr und mehr Milchsäure. Auch der mit Speisen gemischte Magensaft enthält organische Säuren.

Zur Bestimmung des Aequivalents der freien Säure kann man sich mit Vortheil der in § 220 am Ende beschriebenen Titrirmethode mit Aetznatronlauge bedienen.

Um freie Salzsäure im Magensafte, Mageninhalte, Erbrochenen quantitativ zu bestimmen, dürfte kaum ein anderes Verfahren Empfehlung verdienen, als das von C. Schmidt**) in Anwendung gezogene. In einer gemessenen Quantität der Flüssigkeit wird nach Filtriren derselben und Auswaschen die Salzsäure durch Salpetersäure und salpetersaures Silberoxyd gefällt, der Silberniederschlag abfiltrirt, ausge-

*) Richet, Du suc gastrique chez l'homme et les animaux etc. Paris 1878.

**) Bidder u. Schmidt, Die Verdauungssäfte u. d. Stoffwechsel. 1852. S. 44.

waschen, getrocknet und nach § 208 bestimmt. Das Filtrat wird darauf im Porzellantiegel oder Schälchen zur Trockne verdunstet, der Rückstand verkohlt und in der Kohle und Asche Kalk, Magnesia, Kali, Natron, Schwefelsäure, Phosphorsäure nach den oben für die Aschen angegebenen Methoden bestimmt. Zur Bestimmung des Ammoniakgehaltes wird eine gemessene Portion der Flüssigkeit mit Barytwasser deutlich alkalisch gemacht oder wohl besser mit Aetzmagnesia im Ueberschuss versetzt, aus tubulirter Retorte dann diese Mischung der Destillation unterworfen, während sich in der Vorlage etwas Salzsäure befindet. Man destillirt $^3/_4$ der Flüssigkeit ab, verdunstet das Destillat nach Zusatz von Platinchlorid auf dem Wasserbade zur Trockne, übergiesst den Rückstand mit Alkohol und Aether, spült damit den Platinsalmiak auf ein kleines gewogenes Filter, trocknet bei 100° nach genügendem Auswaschen mit Alkohol und Aether und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Nach Tabelle II (siehe Anhang) berechnet man aus dem Platinsalmiak das Ammoniak, berechnet überhaupt alle gefundenen Säuren und Basen für 100 CC. untersuchte Flüssigkeit und vergleicht die Aequivalente der gefundenen Basen mit denen der Säuren, indem man zunächst die Schwefelsäure als an Kali, Natron gebunden betrachtet, dann die noch übrigen Basenäquivalente an Phosphorsäure als saure Phosphate PRH_2O_4 und an Salzsäure gebunden betrachtet. Die dann noch übrige Salzsäure ist als freie Säure anzusehen.

Dieser umständliche Weg ist der einzige bekannte, der einige Sicherheit giebt.

Prüfung auf Pepsingehalt und Energie der Verdauung.

287. Um zu untersuchen, ob eine Flüssigkeit, die aus dem Magen stammt, verdauende Kraft besitzt, prüft man am Besten ihr Verhalten zu ausgewaschenem Blutfibrin. Man giesst eine Portion der klar filtrirten Flüssigkeit in ein Kölbchen, bringt eine kleine Flocke solchen Fibrins hinzu und lässt die Flüssigkeit längere Zeit bei 37° bis 40° im Luftbade darauf einwirken, indem man in Zwischenräumen von mehreren Stunden beobachtet, ob eine theilweise oder völlige Lösung stattgefunden hat. Ist in 12 Stunden keine Einwirkung zu erkennen oder ist Fäulnissgeruch aufgetreten, so ist das Resultat ein negatives. Auch zur quantitativen Schätzung der verdauenden Kraft ist diese Methode noch die brauchbarste, indem die verdauende Kraft ihren Ausdruck in der Geschwindigkeit der Lösung

des Fibrin findet. Durch Anwendung fein zerhackten Fibrins und Bewegung des Gemenges in liegender Flasche um deren Längsachse durch einen Motor mit bestimmter Geschwindigkeit kann man noch genauere Vergleiche der verdauenden Energie mehrerer Flüssigkeiten ausführen.

Die älteren Versuche wurden in der Weise angestellt, dass in eine abgemessene Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit eine abgewogene Portion coagulirtes und in Würfel von bestimmter Grösse zerschnittenes Hühnereiweiss gebracht, eine bestimmte Zeit bei Bluttemperatur damit digerirt, dann abfiltrirt, gewaschen und das ungelöste Eiweiss getrocknet und gewogen wurde. Durch einen gesonderten Versuch wurde in einer Portion dieser Eiweisswürfel der Gehalt an fester Snbstanz bestimmt.

Besser würde das coagulirte Eiweiss zu diesen Versuchen sich eignen, wenn man es in kleine Stückchen zerschneiden oder zerreiben würde, um die Berührungsfläche, möglichst zu vergrössern. Diese Versuchsweise wäre ganz gut, wenn es nicht sehr starker Energie des Magensaftes bedürfte, um eine hinreichende Quantität coagulirtes Eiweiss zu lösen. Fibrin löst sich viel leichter, giebt also schnellere und schärfere Resultate. Caseïn eignet sich weniger zu Verdauungsversuchen, da es durch sehr verdünnte Salzsäure sehr leicht gelöst wird. Das Nähere für derartige Versuche findet man in Bruecke's Arbeiten erläutert.

Da der Magensaft oder erbrochene Massen zuweilen reichlich Pepsin enthalten, aber wegen mangelnder freier Salzsäure oder Milchsäure nicht verdauen können, ist der Pepsingehalt erst dann durch den eben geschilderten Verdauungsversuch zu ermitteln, nachdem man der Flüssigkeit das gleiche Volumen einer Mischung von 8 CC. reiner rauchender Salzsäure und 992 CC. Wasser zugesetzt hat. Die Flüssigkeit erhält dabei, wenn sie neutral war, den ungefähren Gehalt von 0,1 p. M. ClH, und wenn auch die Verdünnung die Verdauungsenergie etwas mindert, ist es doch nicht anders leicht zu machen, kleine Portionen Salzsäure ohne Nachtheil zuzufügen und die Verzögerung durch die Verdünnung ist nicht zu vermeiden.

Da nach v. Wittich's**) Entdeckung das Pepsin gefällt und unwirksam wird, wenn viel Fibrin und Albumin schon verdaut und die

*) Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch. 1859. Bd. 37. S. 14.

**) Arch. f. d. ges. Physiol. S. 435.

freie Säure zur Sättigung der Peptone verbraucht ist, so wird es nöthig, sobald grössere Mengen durch eine hinreichend concentrirte Pepsinlösung verdaut werden sollen, derselben von Zeit zu Zeit wieder einige Tropfen passend verdünnte Salzsäure hinzuzufügen.

Grünhagen*) hat zur Messung des Pepsingehaltes in Verdauungsflüssigkeiten folgende vergleichende Methode angegeben, die von v. Wittich und von Ebstein und Grützner empfohlen wird. Ausgewaschenes Blutfibrin lässt man in Salzsäure von 0,2 pCt. zur steifen Gallert quellen, presst dann gut ab und bringt gleiche Mengen davon auf Filter, die sich auf Trichtern über calibrirten Cylinderglasröhren befinden, stellt dieselben dann im Luftbade bei Brutwärme auf, giesst dann die zu prüfenden Lösungen auf die gequollenen Fibrinportionen; es giebt dann die Geschwindigkeit, mit welcher das Fibrin gelöst wird und die Flüssigkeit durch das Filter läuft, ein Mass für die verdauende Einwirkung der Lösungen.

Ueber die Darstellung künstlicher Verdauungsflüssigkeiten vergl. § 195.

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung des Pepsingehaltes hat Grützner**) gegeben, es muss die weitere Erfahrung über ihre Anwendbarkeit entscheiden.

Sehr häufig enthalten ausgebrochene Massen bei Magenkatarrh, Cholera u. s. w. Albumin durch Erhitzen gerinnend und durch Salpetersäure gefällt. Beimengung von Galle zum Erbrochenen ist die häufigste Erscheinung bei Erbrechen nach Vomitiven, Puerperalfieber, Urämie u. s. w. Die Gallenfarbstoffe weist man durch Salpetersäure, die Gallensäuren durch Zucker und concentrirte Schwefelsäure nach, wie es in den §§ 155 und 165 ausführlich beschrieben ist.

Auch Beimengung von Blut ist oft in erbrochenen Massen zu finden, aber nur bei ganz sistirter Verdauung oder profuser Magenblutung tritt unzersetztes Blut im Erbrochenen auf, meist ist es in eine kaffeesatzartige Masse durch Einwirkung der freien Säure des Magensaftes verwandelt. Diese Massen enthalten kein Hämoglobin, sondern Hämatin; bringt man sie mit etwas kohlensaurem Natron oder Aetznatron gelöst und filtrirt vor den Spectralapparat, so erkennt man bei genügender Verdünnung den in § 191 geschilderten charakteristischen Absorptionsstreif; viel besser erkennbar ist nach Re-

---

*) Ebendaselbst. Bd. 5. S. 203.

**) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 8. S. 452.

duction mit Schwefelammonium der dunkele Absorptionsstreif des Hämochromogen. Der Magen kann aber auch andere Farbstoffe in den Speisen erhalten haben, welche bei dieser Untersuchung stören, auch reichlicher Gallegehalt im Erbrochenen ist störend. Um diese Farbstoffe zu entfernen, erwärmt man die Flüssigkeit mit etwas verdünnter Salpetersäure, filtrirt, löst den Niederschlag in sehr verdünnter Natronlauge und prüft im Spectrum.

Die Untersuchung des Erbrochenen oder Mageninhaltes auf Zucker, Harnstoff, Ammoniak wird in der Weise ausgeführt, wie es für seröse Flüssigkeiten in den §§ 258 und 259 angegeben ist.

Das Pankreassecret.

288. Das Secret des Pancreas ist characterisirt durch drei in ihm im normalen Zustande stets vorhandene Fermente, von denen das eine sehr kräftige diastatische Wirkung zeigt, das zweite, sehr leicht veränderliche und deshalb noch sehr wenig gekannte Ferment Fette in Säuren und Glycerin spaltet und das dritte identisch ist mit Trypsin (vergl. oben S. 307). Das diastatische Ferment zerlegt Amylum oder Glycogen in der nämlichen Weise zu Dextrinen, Maltose und schliesslich Traubenzucker wie das Ferment des Speichels. Diastatische Fermente sind in den Wasserauszügen der verschiedensten Organe des Menschen und vielleicht aller bisher untersuchten Thiere gefunden, aber von keinem Organ hat man gleich intensive Wirkung gesehen als vom Pancreas und seinem Secret. Schon bei Stubentemperatur ist in wenigen Secunden nach der Mischung einiger Tropfen des Kaltwasserauszugs der Drüse oder des Secrets mit etwas Stärkekleister durch die Trommer'sche Probe Maltose nachweisbar, Traubenzucker tritt erst spät auf. Bei 30—45° geht diese Umwandlung wie mit dem Speichel noch schneller vor sich.

Das in Wasser lösliche Trypsin ist, soviel bekannt, nur dem Pancreas eigen, und man hat wohl ein Recht, bei niederen Thieren ein Organ, welches ein Secret in den Darm ergiesst und dessen Wasserauszug die fermentative Wirkung des Trypsins zeigt, als Pancreas zu bezeichnen. Im ganz frischen Pancreas vom Hunde oder Rind scheint dies Ferment noch nicht vorhanden zu sein, sich aber im Verlaufe von ein paar Stunden von selbst, und durch geringfügige Einwirkung auch viel schneller zu bilden. Man prüft auf Trypsin am besten in nahezu neutraler Lösung mit frisch dargestelltem, mit Wasser gewaschenen und feingehackten Fibrin. Dasselbe wird von Trypsin-

lösung schnell gelöst unter Bildung zunächst von Serumglobulin oder einer demselben sehr ähnlichen Globulinsubstanz, Pepton, Leucin, Tyrosin, NH_3, CO_2 u. s. w. Die Fällung der Globulinsubstanz durch Magnesiumsulfat, Wiederauflösung des Niederschlags bei Wasserzusatz, Coagulation beim Erhitzen, ferner die Biuretreaction der durch Kochen von coagulablen Verdauungsproducten befreiten Lösung, welche schon in der Kälte eintretend die Anwesenheit von Pepton angiebt, endlich die Krystallisation von Leucin und Tyrosin aus dem heissen Alkoholauszug der zum Syrup eingedickten Verdauungsflüssigkeit nach Verdunsten des Alkohols, und die Probe mit Millon's Reagens, sowie die Bildung von Tyrosinsulfosäure nach Piria (vergl. oben S. 218) geben den Nachweis der hauptsächlichsten Umwandlungsproducte, welche das Fibrin besonders schnell bei 40°, aber auch bei 20° in ein paar Stunden liefert.

Für die Untersuchung auf das Fette spaltende Ferment ist völlig säurefreies Fett zu benutzen. Man löst am besten Butter oder Mandelöl, Olivenöl in Aether, schüttelt diese Lösung mit verdünnter Sodalösung im Scheidetrichter, giesst die klare Aetherlösung ab, wäscht sie mit Wasser und gewinnt das reine Fett durch Abdestilliren des Aethers. Man mischt durch starkes Umschütteln ungefähr gleiche Volumina des Fettes und der zu prüfenden Flüssigkeit zur feinen Emulsion, lässt unter öfterem Umschütteln 2—6 Stunden bei 40° stehen. Um nun zu untersuchen, in wie weit fette Säuren abgespalten sind, fügt man zur Emulsion verdünnte Sodalösung und Aether, schüttelt anhaltend aber ohne zu heftige Stösse um, lässt einige Zeit ruhig stehen, so dass der Aether sich klärt, giesst diese ätherische Lösung der noch unzersetzt gebliebenen Fette ab, wäscht die wässrige alkalische Flüssigkeit noch mehrmals mit Aetherportionen, fügt dann verdünnte Schwefelsäure bis zur stark sauren Reaction hinzu und schüttelt die saure Flüssigkeit mit neuen Aetherportionen aus. Die klar abgegossenen, nöthigenfalls filtrirten Aetherauszüge geben beim Verdunsten die durch das Ferment aus dem Fett in Freiheit gesetzten Säuren, deren nähere Untersuchung und Trennung nach § 71—73 auszuführen ist.

Da die Pankreasdrüse und ihr Secret sehr grosse Neigung hat, in Fäulniss überzugehen, durch die Fäulniss aber die sämmtlichen genannten fermentativen Umwandlungen gleichfalls ausgeführt werden, ist es zweckmässig, bei längere Zeit fortgesetzten Versuchen, um Verwechselung zu vermeiden, antiseptische Zusätze zu machen. Es

sind hierzu besonders Salicylsäure und Thymol empfohlen. Ist aber die Flüssigkeit stark salicylsäurehaltig, so wirkt diese Säure allmälig störend auf die Trypsinverdauung, enthält sie weniger von der Säure, so tritt, wenn auch verspätet, doch Fäulniss ein. Durch Zusatz von Quecksilberchlorür als sehr feines Pulver und häufiges Zusammenschütteln wird die Fäulniss vollständig abgehalten und die Fibrinverdauung durch Trypsin sowie die Spaltung der Fette nicht bemerkbar beeinträchtigt*). Die diastatische Einwirkung der Pankreasdrüse und ihres Secrets ist so intensiv, dass eine Verwechselung mit Fäulnisswirkung ausgeschlossen ist auch ohne Zusatz eines Antisepticum. Lässt man die Versuche der Eiweissverdauung und Fettspaltung nur ein paar Stunden dauern, so kann gleichfalls kaum Verwechselung mit Fäulniss vorkommen, wenn die Fermentwirkungen kräftige sind.

Mit Ausnahme der Untersuchung auf die Wirksamkeit des Secretes bezüglich der Umwandlung der Albuminstoffe, des Amylum und der Fette wird jede qualitative und quantitative Analyse dieses Secretes nach den Methoden auszuführen sein, wie sie in dieser Abtheilung für die serösen Flüssigkeiten beschrieben ist.

Die bei Thieren selten vorkommenden Concremente im pancreatischen Gange werden in derselben Weise wie die Speichelsteine untersucht. Sie bestehen meist aus kohlensaurem Kalk.

Untersuchung der Galle.

Zusammensetzung.

289. Die Galle, obwohl räthselhaft hinsichtlich ihrer physiologischen Bedeutung, ist in ihrer chemischen Zusammensetzung von allen Secreten am Genauesten erforscht. Sie stellt im normalen Zustande bei Menschen und Thieren eine schleimige, völlig klare braune, gelbbraune, grüne oder bläulich grün gefärbte, bitter und aromatisch schmeckende Flüssigkeit von neutraler oder schwach alkalischer Reaction dar, die durchaus keine beim Erhitzen gerinnende Albuminstoffe enthält, mit Alkohol einen reichlichen in Wasser schwer und unvollständig wieder löslichen Niederschlag von Mucin mit etwas Farbstoff und Spuren von Diastase giebt, im Wesentlichen aber eigenthümliche Säuren an Natron oder Kali gebunden enthält, die ausser in Galle und Darminhalt sich im normalen Zustande im ganzen Körper nicht finden. Bei Raubthieren

---

*) Wassilieff, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 112.

ist es meist Taurocholsäure an Natron gebunden, welche die Hauptmasse des festen Rückstandes der Galle darstellt, bei Rindern ist daneben glycocholsaures Natron vorhanden, beim Schweine und bei Vögeln, auch in der Galle von Menschenleichen finden sich eigenthümliche, noch nicht hinreichend untersuchte Gallensäuren. Lecithin und Cholesterin sind in jeder normalen Galle gefunden, die darauf untersucht ist, auch ein geringer Gehalt an Fetten und Seifen scheint in jeder Galle zu sein; die Farbstoffe, die ebenfalls in jeder Galle auftreten, zeigen manche Verschiedenheiten. Beim Menschen, ebenso bei den meisten fleischfressenden Säugethieren ist, wie es scheint, das Bilirubin der hauptsächliche färbende Bestandtheil. Im Hungerzustande zeigt sich stets grüne Färbung der Galle durch Biliverdin. Neben diesen organischen Körpern enthält die Galle stets phosphorsaures Natron, Chlornatrium, etwas phosphorsauren Kalk und Eisenoxyd, auch oft Spuren von Kupfer.

Sehr häufig finden sich in der Gallenblase beim Menschen, auch nicht selten bei Thieren Concremente, die am Häufigsten aus Cholesterin und Bilirubinkalk im Wesentlichen bestehen; aber auch andere Concremente sind zuweilen in der Gallenblase gefunden.

Pathologische Beimengungen wie Albumin, veränderter Blutfarbstoff, Zucker, Harnstoff, kommen öfters vor, auch kann durch Entzündung und Verstopfung der Gallenblase eine Ansammlung von Flüssigkeit in der Gallenblase zu Stande kommen, die gar keine Galle mehr enthält.

So lange die Galle Schleim enthält, zersetzt sie sich schnell, indem ihre Reaction stärker alkalisch und der Geruch faulig wird. Bei dieser Fäulniss zerfällt auch die Taurocholsäure leicht unter Bildung von Cholalsäure, welche in der frischen Galle noch nie gefunden ist. Wird der Schleim der Galle, der übrigens völlig klar darin gelöst ist, durch Alkohol ausgefällt, so zeigt die Flüssigkeit keine Neigung zur Zersetzung mehr, auch nicht nach Verdunsten des Alkohol. Auch die Gallenfarbstoffe erfahren bei der Fäulniss der Galle chemische Veränderungen, doch bleiben sie auch in fauler Galle durch Salpetersäure lange Zeit nachweisbar (vergl. § 165).

Verhalten der normalen Galle zu den wichtigeren Reagentien.

290. Die Galle ist mit Wasser in jedem Verhältnisse mischbar, giebt dagegen mit Alkohol einen reichlichen flockigen, beim Trocknen

sehr schwindenden Niederschlag von Mucin. Verdampft man sie zur Trockne im Wasserbade, so hinterlässt sie einen harzigen, spröden, beim Erwärmen erweichenden, sehr hygroskopischen Rückstand. Alkalien verändern die Farbe der Galle, aber bewirken keine Niederschläge, während diese durch Säuren reichlich entstehen. Fügt man wenig Essigsäure zur Galle, so wird zunächst nur der Schleim gefällt, ebenso beim Zusatz von einigen Tropfen sehr verdünnter Mineralsäuren, durch Zusatz von grossen Säuremengen entstehen Niederschläge von Glycocholsäure zunächst in Flocken, die bald zur harzigen Masse zusammenbacken; in concentrirter Schwefelsäure löst sich dieser Niederschlag wieder auf mit bräunlicher Farbe und allmälig sich ausbildender starker grünlicher Fluorescenz. Chlorbarium bringt in der Galle nur dann einen Niederschlag hervor, wenn sie stark alkalisch geworden ist und auch bereits Cholalsäure enthält, dagegen geben Bleizuckerlösung und Bleiessig und überhaupt viele Salze schwerer Metalle unlösliche Niederschläge, die aus Verbindungen der Gallensäuren mit diesen Metallen bestehen.

Fügt man zu einer Galle zunächst Bleizuckerlösung, so wird dadurch hauptsächlich die Glycocholsäure gefällt, nach völliger Ausfällung mit diesem Reagens giebt Bleiessig noch einen Niederschlag, der hauptsächlich taurocholsaures Bleioxyd enthält. Zur völligen Ausfällung dieser Säuren ist Zusatz von etwas Ammoniak ausser dem Bleiessig erforderlich.

Dampft man die Galle im Wasserbade zur Trockne ein, extrahirt den Rückstand mit absolutem Alkohol, filtrirt, concentrirt die Lösung im Wasserbade, bringt sie in eine Flasche und fällt durch einen grossen Ueberschuss von Aether, so entsteht zunächst ein harziger Niederschlag, der sich in einigen Stunden oder Tagen in schöne Krystallnadeln verwandelt. Es krystallisiren nämlich hierbei glycocholsaures und taurocholsaures Alkali aus (letzteres z. B. rein in der Galle des Hundes, der Katze, des Marder), in der ätherischen Lösung bleiben Cholesterin, Lecithin und Fette, welche man durch Verdunsten dieser Lösung zum Theil krystallisirt erhalten kann, gelöst.

Bei der trocknen Destillation des Verdampfungsrückstandes der Galle erhält man sehr reichlich ein stark aromatisch riechendes flüchtiges Oel.

Die Schweinegalle giebt mit krystallisirtem schwefelsauren Natron in hinreichender Quantität versetzt einen flockigen Niederschlag von hyoglycocholsaurem Alkali; der Niederschlag ist in Wasser wieder

leicht löslich; andere Gallensäuren geben diesen Niederschlag nicht, man kann also Schweinegalle hierdurch von anderer Galle unterscheiden.

Schüttelt man die Galle von Menschen oder fleischfressenden Thieren mit Chloroform, so geht ein Theil des Cholesterin und Bilirubin in die Lösung über und scheidet sich krystallinisch aus, wenn man die Chloroformlösung abhebt und verdunsten lässt.

Jede Galle, welche Gallensäure enthält, giebt mit Zucker und concentrirter Schwefelsäure die in § 155 geschilderte Pettenkofer'sche Reaction. Es kommen, wenn auch sehr selten, Fälle vor, in denen bei der Section aus der Gallenblase entnommene dunkel oder hell gefärbte menschliche Gallen keine Purpurfärbung mit Zucker und Schwefelsäure geben und eben auch keine Gallensäuren mehr enthalten.

Nach Méhu*) werden Gallensäuren, Gallenfarbstoff, Mucin durch Ammoniumsulfat quantitativ ausgefällt.

Untersuchung der Galle auf Albumin, Blutfarbstoff, Zucker, Harnstoff, Leucin.

291. Zur Untersuchung der Galle auf Albumin wird dieselbe mit verdünnter Essigsäure vorsichtig neutralisirt und dann zum Kochen erhitzt; ist Albumin zugegen, so wird es dabei coagulirt. Statt dessen kann man die Galle durch Ueberschuss von Alkohol fällen, den Niederschlag abfiltriren, auswaschen und mit starker Essigsäure ausziehen, welche das Mucin ungelöst lässt, aber die coagulirten Eiweissstoffe löst. Man verdunstet die filtrirte essigsaure Lösung auf kleines Volumen und fügt dann concentrirte Glaubersalzlösung hinzu; hatte die Essigsäure Albuminstoffe ausgezogen, so entsteht ein flockiger Niederschlag. Da Salpetersäure aus der Galle Gallensäuren fällt, kann man sie zum Nachweis des Albumin hier nicht direct benutzen.

Um in einer Galle Spuren von Zucker nachzuweisen, entfärbt man sie wenigstens theilweise am Besten mit Blutkohle, filtrirt und prüft nun mit Trommer'scher oder Boettcher'scher Probe nach § 88.

Da die Galle bei Bluttemperatur binnen kürzester Zeit nicht allein die Blutkörperchen auflöst, sondern auch das Oxyhämoglobin in Hämatin und Albuminstoffe unter Abscheidung des grössten Theiles beider als unlöslichen Niederschlag umwandelt, kann man Blutextra-

*) Journ. de pharm. et de chim. Aôut 1878.

vasate nur dann in der Gallenblase unverändert finden, wenn keine Galle da ist. Nicht allzu selten finden sich dagegen krümliche Niederschläge in der Galle der Gallenblase, welche aus derartig verändertem Blutfarbstoff bestehen. Löst man dieselben in etwas verdünnter Natronlauge, so giebt die Lösung im Spectrum den § 191 beschriebenen Absorptionsstreifen, nach Zusatz von Schwefelammonium die Absorption des Hämochromogen (vgl. S. 298, Fig. 10, No. 4.)

Um auf Harnstoff zu prüfen, verdunstet man am Besten die Galle zur Trockne, extrahirt den Rückstand mit wenig Alkohol und fällt mit grossem Ueberschuss von Aether. Man giesst nach einiger Zeit die Lösung vom Niederschlage klar ab, destillirt von derselben den Aether ab und verdunstet zur Trockne. Den Rückstand nimmt man in wenig Wasser auf, filtrirt und bestimmt in dieser Lösung den Harnstoff nach der oben S. 140 beschriebenen Methode. Die einfache Titrirung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd giebt keine brauchbaren Werthe.

Zur Auffindung von Leucin in der Galle fällt man dieselbe mit Bleiessig und etwas Ammoniak völlig aus, filtrirt, fällt in dem Filtrate durch Schwefelwasserstoffgas das Blei aus, filtrirt, dampft die Flüssigkeit ein und prüft im Rückstande nach der auf S. 174 oben beschriebenen Methode auf Leucin.

Die anorganischen Stoffe der Galle.

292. Die Gallensäuren sind in der Galle fast immer hauptsächlich an Natron gebunden, bei Seefischen hat sich zuweilen in der Galle viel Kali gefunden. Im Uebrigen sind noch von Interesse der Gehalt der Galle an Eisenoxyd und Kupfer. Fällt man die Galle durch grossen Ueberschuss von Alkohol, so findet sich das Eisen im Niederschlage ohne Zweifel an Phosphorsäure gebunden; in welcher Verbindung das so häufig vorkommende Kupfer sich befindet, ist noch nicht ermittelt. Wenn die Galle, wie es bei der aus menschlichen Gallenblasen entnommenen zuweilen der Fall ist, sauer reagirt, wird durch Alkohol saures phosphorsaures Alkali gefällt. Die Untersuchung der anorganischen Stoffe der Galle erfordert zunächst Trennung der in Aether löslichen Substanzen von den übrigen, ehe die Veraschung ausgeführt wird, weil nur in dieser Weise die Einwirkung der bei Verbrennung des Lecithin entstehenden Phosphorsäure auf die anorganischen Bestandtheile der Galle vermieden wird. Ausserdem ist

aber auch Trennung der in absolutem Alkohol löslichen von den darin unlöslichen Stoffen erforderlich, weil bei der Veraschung des taurocholsauren Alkali schwefelsaures Salz gebildet werden kann; das in der Galle präformirt enthaltene schwefelsaure Salz wird vom Alkohol nicht gelöst.

Man behandelt daher die Galle nach dem Trocknen mit Alkohol und den Rückstand vom Alkoholauszug mit Aether so wie es im folgenden Paragraphen beschrieben ist, verascht dann getrennt den Alkohol- und den Aetherextractsrückstand sowie die vom Alkohol nicht gelösten Stoffe und analysirt die Aschen nach den in den §§ 201 bis 216 gegebenen Methoden.

Bestimmung des Gehaltes der Galle an festen Stoffen, Mucin, Gallensäuren, Fetten, Seifen, Cholesterin, Lecithin, Gallenfarbstoffen.

293. Da die Galle der meisten Thiere sowie die des Menschen über 5 pCt. feste Substanzen enthält, ist man recht wohl im Stande, in einer Quantität von etwa 20—30 CC. dieser Flüssigkeit die wichtigeren Bestandtheile quantitativ zu bestimmen. Man ermittelt zunächst durch Wägung im Pycnometer (vergl. § 15) das spec. Gewicht der Flüssigkeit und misst dann zwei Portionen der Galle ab, die eine, höchstens 10 CC., zur Bestimmung der festen Stoffe und der Summe der anorganischen Stoffe, die andere mindestens zu 20—30 CC., wenn hinreichende Quantität zu Gebote steht, zur Bestimmung der einzelnen Bestandtheile. Die erste kleinere Portion wird erst auf dem Wasserbade, dann im Luftbade bei 100—105^{0} sorgfältig getrocknet und nach Erkalten des sehr hygroskopischen Rückstandes über Schwefelsäure bedeckt gewogen, dann verascht und die Quantität der Asche bestimmt, welche Bestimmung ein genaues Resultat nicht wohl ergeben kann, (vergl. § 292). Die andere grössere Portion wird mit dem mehrfachen Volumen Alkohol gefällt, filtrirt durch gewogenes Filter, der Niederschlag zuerst mit Alkohol gewaschen und die alkoholischen Filtrate vereinigt, dann der Niederschlag mit essigsäurehaltigem Wasser gewaschen, auch dieser Auszug aufgesammelt, das Filter mit dem ungelösten Mucin, phosphorsaurem Eisen und etwas Farbstoff getrocknet, gewogen, dann verascht und die Asche gewogen. Die Alkoholauszüge werden nun bei mässiger Wärme auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahirt und der Rückstand mit absolutem Alkohol gewaschen. Was der Alkohol nicht löst, wird mit

dem essigsauren Auszug vereinigt, verdunstet, getrocknet, gewogen und dann die Asche davon bestimmt (die Asche enthält z. B. die schwefelsauren Salze, auch wohl Chloralkalimetall). Der Alkoholauszug wird wieder verdunstet auf kleines Volumen, dann mit überschüssigem Aether gefällt, so lange Niederschlag entsteht, und das Ganze mehrere Tage stehen gelassen, damit die gallensauren Salze womöglich krystallisiren. Dann wird die Aetherlösung abgegossen oder abfiltrirt, der Niederschlag nach dem folgenden Paragraphen untersucht, die Aetheralkohollösung nach Abdestilliren des Aethers durch vorsichtiges Verdunsten auf dem Wasserbade von den Resten von Alkohol und Aether befreit, der über Schwefelsäure mit der Luftpumpe getrocknete Rückstand schnell mit alkohol- und wasserfreiem Aether behandelt und erschöpft, abfiltrirt unter Bedeckung des Filtrats, die im Aetherauszuge enthaltenen Fette, Cholesterin, Lecithin bestimmt, wie es in § 263 angegeben ist, die vom absoluten Aether nicht gelösten Stoffe: Seifen, Harnstoff und Spuren von Chlornatrium, getrocknet und gewogen. Der Harnstoff wird in einer besonderen Portion nach der S. 140 beschriebenen Methode bestimmt werden müssen.

Es sind mehrere Versuche gemacht, die Farbstoffe in der Galle colorimetrisch entweder mit dem Spectroscop oder ohne dasselbe zu bestimmen, da aber die Galle, auch frisch secernirte, neben Bilirubin sehr verschiedene Quantitäten Biliverdin enthalten kann und man nicht im Stande ist, den einen dieser Farbstoffe aus der Lösung zu entfernen, ohne dass vom andern gleichfalls ein Theil derselben entzogen wird, können brauchbare Resultate auf diesem Wege noch nicht gewonnen werden (vergl. oben S. 21, Anmerkung).

Bestimmung des Gehaltes an Glyco- und Taurocholsäure im Alkoholextracte der Galle.

294. Der Niederschlag, welcher durch grossen Ueberschuss von Aether in dem concentrirten alkoholischen Auszug der Galle erhalten wird (vergl. vorigen Paragraphen), dient zur Bestimmung des Gehaltes an Glyco- und Taurocholsäure. Neben gallensauren Alkalien kann derselbe auch noch Salze fetter Säuren und der Oelsäure sowie Chlorkalium oder Chlornatrium enthalten. Steht hinreichende Quantität des Niederschlags zu Gebote, so wird seine Untersuchung am besten in der Weise geschehen, dass er zunächst in Wasser gelöst, das Volumen der Lösung gemessen, dasselbe in 3—5 gemessene Portionen

getheilt wird und diese Portionen in folgender Weise zu getrennten Untersuchungen dienen. Die erste Portion wird auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, der Rückstand im Luftbade bei 105—110° getrocknet, über Schwefelsäure erkalten gelassen, bedeckt gewogen, dann verascht, die Menge der Asche, des Chlorgehaltes, des Kalium und Natrium bestimmt (Lösen der Asche in Wasser, Fällen mit Salpetersäure und Silbernitrat, Ausfällung des Filtrats mit Salzsäure und Bestimmung der Chlormetalle, vergl. §§ 202, 205 und 208). Die zweite Portion dient zur Bestimmung des Schwefelgehaltes (Berechnung der Taurocholsäure) und wird in einer Platin- oder Silberschale mit Aetzkali versetzt eingedampft, dann Salpeter zugesetzt und erhitzt nach § 60. Auch die von Külz hierfür empfohlene Carius'sche Methode der Schwefelbestimmung ist meist hier gut anzuwenden.

Die dritte abgemessene Portion der Lösung dient zur Bestimmung der Glycocholsäure, Taurocholsäure und der fetten Säuren. Man kann sie zunächst mit reiner geglühter Thierkohle entfärben, die Kohle gut auswaschen, die Filtrate auf dem Wasserbade sehr concentriren mit absolutem Alkohol, in mässiger Menge mischen und nun nach Messung des Volumens der Lösung mit dem Wild'schen oder dem Halbschattenapparate die Circumpolarisation bestimmen. Hat bei dieser Bestimmung ein Verlust der Flüssigkeit stattgefunden, so wird das noch vorhandene wieder gemessen, dann durch Verdunsten der Alkohol verjagt, der Rückstand mit Wasser in ein unten dick zugeschmolzenes Rohr aus Kaliglas gebracht, in welches mindestens 5 Grm. krystallisirter Aetzbaryt trocken vorher eingebracht war, mit Wasser sorgfältig nachgespült (das Eingiessen muss durch ein tief hinabreichendes Trichterrohr geschehen), dann das Glasrohr 1 Decimeter über dem Flüssigkeitsniveau zugeschmolzen und nach Erkalten und gutem Umschütteln das Glasrohr 10—12 Stunden im Oelbade bei 110—120° erhalten. Dann wird das Glasrohr mit Feile und Sprengkohle vorsichtig geöffnet, die Flüssigkeit in ein Becherglas ausgegossen, mit warmem Wasser nachgespült, die Lösung warm mit einem Strom von Kohlensäure behandelt, bis kein Bariumcarbonat mehr gefällt wird, dann siedend heiss im Wasserbadtrichter filtrirt und mit heissem Wasser so lange ausgewaschen, als noch cholalsaurer Baryt in das Filtrat übergeht. Der Rückstand besteht dann nur noch aus den Barytverbindungen von fetten Säuren und Oelsäure neben viel Bariumcarbonat; durch Schütteln des Niederschlags mit Aether nach Ueber-

sättigen mit Salzsäure erhält man im Aether die fetten Säuren und Oelsäure, wenn sie überhaupt vorhanden sind, und sie bleiben nach dem Verdunsten des Aethers zurück. Die heissen Wasserfiltrate enthalten cholalsauren Baryt neben Glycocoll, Taurin u. s w.; sie werden auf kleines Volumen abgedampft, ohne den Niederschlag abzufiltriren, mit Aether und Salzsäure versetzt und offen einige Tage zur Verdunstung des Aethers stehen gelassen. Dann wird durch gewogenes Filter die Cholalsäure abfiltrirt, gewaschen, getrocknet bei 120° und gewogen. Die abfiltrirte Lösung kann nach Entfernung des Barium durch Aetzammoniak und kohlensaures Ammoniak noch zur nochmaligen Bestimmung des Schwefelgehaltes benutzt werden.

Kennt man den Gehalt an Schwefel, so wird daraus die Taurocholsäure berechnet, aus dieser berechnet man die bei ihrer Spaltung entstehende Cholalsäure, 100 Thl. Taurocholsäure geben 72,22 Thl. Cholalsäure. Zieht man dann diesen Werth von der oben gefundenen Cholalsäure ab, so würde der Rest von Cholalsäure, der übrig bleibt, als Glycocholsäure zu berechnen sein und nach der Formel entsprechen 100 Thl. Cholalsäure 113,98 Thl. Glycocholsäure.

In der oben vorgeschriebenen Untersuchung der Circumpolarisation bietet sich nur für diese Bestimmung eine gute Controle für die Analyse. Ist nämlich a die beobachtete Drehung in Graden für Natriumlicht bei 0,1 M. langer Schicht, m der aus dem schwefelsauren Baryt berechnete Gehalt an Taurocholsäure, so ist

$$n = \frac{100 \,.\, a - m \,.\, 25,3}{27,6}$$

der Gehalt der Flüssigkeit an Glycocholsäure, da die spec. Drehung der an Natron gebundenen Taurocholsäure in alkoholischer Lösung $= + 25,3^{0}$, die der Glycocholsäure $+ 27,6^{0}$ für Natriumlicht ist.

Die obige Bestimmung von Taurochol- und Glycocholsäure in der Galle stützt sich wesentlich darauf, dass beide Säuren durch Kochen mit Aetzbaryt vollkommen gespalten und das Taurin so wenig als die Cholalsäure durch weiteres Erhitzen mit Aetzbaryt angegriffen werden Ausführlichere Darlegungen der bei dieser Bestimmung in Betracht kommenden Verhältnisse sind im Journal f. prakt. Chemie, Bd. 89. S. 257—282, gegeben.

Man kann diese Bestimmung der Rotation für die Analyse nur dann benutzen, wenn das Cholesterin bereits durch Aether entfernt ist, nicht in der ursprünglichen entfärbten Galle, da das Cholesterin

eine Linksdrehung bewirkt, die zwar gering ausfallen, aber doch immerhin schädlich wirken würde.

In der menschlichen Galle sind auch in den Stoffen, die in Alkohol gelöst und durch Aether gefällt werden, stickstoffreiche basische Substanzen gefunden, z. B. Neurin, wenn auch dasselbe erst durch Spaltung von Lecithin entstanden ist. Will man auf diese Stoffe bei der Analyse noch Rücksicht nehmen, so würden mindestens 2 weitere Portionen des Aetherniederschlags in Wasser gelöst abzumessen sein, von denen die eine zur Gewinnung von Neurinplatinchlorid u. s. w. (vergl. § 110), die andere nach völliger Trocknung ihres Rückstandes zu Stickstoffbestimmungen dienen würde. Bezüglich letzterer ist auf die bekannten Anleitungen zur organischen Elementaranalyse zu verweisen.

Ueber die Anthropocholsäure in der Galle von Menschenleichen vergl. oben S. 228.

Untersuchung der Gallensteine und der Sedimente der Galle.

295. Die bei Weitem häufigsten Concremente, welche sich in der menschlichen Gallenblase finden, und zwar sämmtliche grösseren Gallensteine, bestehen aus krystallisirtem Cholesterin ($C_{25}H_{42}O + H_2O$) und mehr oder weniger Gallenfarbstoff in Verbindung mit Kalk und kohlensaurem Kalk. Im Centrum der meist concentrisch geschichteten Cholesterinsteine ist der Gallenfarbstoffgehalt meist viel bedeutender als in den peripherischen Partien, und zuweilen lässt sich im Centrum ein Klümpchen Schleim nachweisen, welches gewöhnlich die Gelegenheitsursache zur Bildung dieser Concremente zu geben scheint. Ausser diesen Concrementen finden sich beim Menschen oft kleine schwarze, meist unregelmässig geformte Steinchen, die bei geringerem Cholesteringehalte reichlicher Farbstoff und Kalksalz enthalten und zugleich gewöhnlich kupferhaltig sind. Die nicht seltenen Gallensteine der Rinder enthalten hauptsächlich Bilirubincalcium. Gelb oder braun gefärbte rundliche Steinchen als Sand und Gries, die hauptsächlich aus kohlensaurem Kalk bestehen, finden sich beim Menschen selten, häufiger mit etwas phosphorsaurem Kalk gemengt bei Rindern. Flockige weiche Niederschläge in der Galle, welche meist amorph, seltener krystallisirt Bilirubin (Hämatoidin) enthalten, werden zuweilen beobachtet; Schleimmassen, gewöhnlich dunkelgrün oder braun gefärbt, sind nicht selten. Die reichlich Cholesterin enthaltenden Steine zeichnen sich

durch krystallinisch glänzende Bruchflächen, Weichheit, geringes spec. Gewicht aus.

Man untersucht die Gallenconcremente am Einfachsten auf folgende Weise: Die gepulverten Massen werden zunächst mit Wasser ausgekocht, um die Reste von Galle, die sich darin gewöhnlich befinden, zu entfernen; den Rückstand extrahirt man mit einer Mischung von etwa gleichem Volumen Alkohol und Aether, so lange diese Mischung noch etwas aufnimmt. Das Ungelöstgebliebene wird mit Salzsäure übergossen (es entsteht dabei Aufbrausen, wenn kohlensaurer Kalk zugegen ist) und mit Wasser gut ausgewaschen. Es bleiben jetzt nur noch Gallenfarbstoffe zurück, die am Besten nach den in § 163 nach Staedeler's Untersuchungen gegebenen Vorschriften dargestellt werden. Auch Hydrobilirubin findet sich nicht selten in Gallensteinen (vergl. oben S. 251).

Die ätherisch-alkoholische Lösung auf ein kleines Volumen verdunstet lässt beim Erkalten das Cholesterin herauskrystallisiren, dessen sichere Erkennung keine Schwierigkeit bietet (vergl. § 152).

Die salzsaure Lösung wird zur Trockne in einem Schälchen verdunstet, der Rückstand geglüht und nach dem Erkalten in Wasser und ein wenig Salzsäure wieder gelöst. Enthält die Lösung Kupferoxyd, so giebt sie mit Aetzammoniak übersättigt blaue Färbung. Man untersucht die Lösung im Uebrigen wie die einer Asche nach § 204.

Zur quantitativen Bestimmung würde das Steinpulver zu trocknen und zu wägen sein, ebenso der Rückstand des Alkohol-Aetherextractes bei 110° getrocknet und der auf gewogenem Filter gesammelte, in Aether, Salzsäure und Wasser unlösliche Theil des Steins nach Trocknen bei 110°.

In der salzsauren Flüssigkeit, die wie oben angegeben zur Trockne verdunstet und deren Rückstand nach dem Glühen in Wasser und etwas Salzsäure wieder gelöst wird, fällt man das Kupfer durch einen Strom Schwefelwasserstoffgas, filtrirt und bestimmt im Filtrate Eisen, Kalk, Magnesia und Phosphorsäure nach den für die Aschenanalyse gegebenen Methoden. Das Schwefelkupfer wird mit dem Filter in einem gewogenen Platintiegel bei gutem Luftzutritt bis zur Verkohlung des Filters erhitzt, dann mit Salpeter und etwas kohlensaurem Natron zum Schmelzen erhitzt, die Masse nach dem Erkalten in Wasser aufgelöst. Das Kupferoxyd wird auf einem aschefreien Filterchen gesammelt, ausgewaschen, getrocknet, wieder in jenem

Platintiegel bei gutem Luftzutritt verbrannt und das geglühte Kupferoxyd nach dem Erkalten gewogen.

Untersuchung des Schweisses.

296. Der Schweiss vom Menschen und vom Pferde, soweit dies Secret bis jetzt untersucht ist, enthält neben einer nicht unbedeutenden Quantität anorganischer Salze, besonders Chlorkalium, Chlornatrium, geringe Mengen von Harnstoff, fetten flüchtigen Säuren, theils frei, theils an Alkali gebunden, besonders Buttersäure, dagegen keinen Zucker im normalen Zustande. Nach Einnahme von Benzoësäure soll der Schweiss Hippursäure enthalten; bei Diabetes ist zuweilen Zuckergehalt des Schweisses constatirt. Bei Aufhören der Nierensecretion besonders im urämischen Stadium nach Cholera ist der Schweiss zuweilen so reich an Harnstoff, dass die Körperoberfläche mit Krystallen von Harnstoff bedeckt wird. Geringer Albumingehalt ist im Schweisse gefunden*); die Ursache der Klebrigkeit gewisser pathologischer Schweisse ist noch nicht bekannt.

Die von unreiner Haut gesammelten Schweisse können Leucin und Tyrosin neben Baldriansäure und Ammoniak enthalten; die sogenannten „stinkenden Fussschweisse“ sind solche durch Schmutz, faulendes Epithel und Talgdrüsensecret verunreinigte Flüssigkeiten; die reinen Secrete der Schweissdrüsen enthalten weder Tyrosin und Leucin, noch haben sie einen üblen Geruch.

Die Reaction ist im normalen Zustande stets sauer gefunden bei der Untersuchung des frischen Secretes, aber beim Stehen wird dieselbe meist sehr bald neutral oder selbst alkalisch, es enthält dann nachweisbar Ammoniak, welches auf gleiche Weise aus dem Harnstoff durch Gährung entsteht als im Harne; Gelegenheit zur Verunreinigung des Schweisses mit zersetzenden Pilzen und Infusorien ist bei der allein möglichen Methode des Auffangens nur zu reichlich vorhanden.

Daher ist es wichtig, jede zu untersuchende Portion Schweiss sofort nach dem Auffangen mit dem dreifachen Volumen Alkohol zu mischen, um diese Zersetzungen zu vermeiden.

Die sämmtlichen Untersuchungen des Schweisses werden wie die

*) Leube, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1869. No. 39. Arch. f. pathol. Anat. Bd. 48.

von Transsudaten ausgeführt. Auf Zucker kann man mit Trommer-scher Probe erst nach Ausfällung des Albumin prüfen.

Rothe Färbung der Wäsche, in selteneren Fällen blaue Färbung derselben durch Schweisse sind öfter beobachtet. Bizio wies in zwei Fällen Indigo als die Ursache der blauen Färbung nach (vergl. §§ 135 u. 140).

Die Thränen, obwohl der Entstehung nach ein unzweifelhaftes Secret, zeichnen sich vor den Transsudaten nur durch reichlicheren Gehalt an Chlornatrium aus. Sie sind im normalen und pathologischen Zustande des Auges noch sehr wenig untersucht. Man würde sie in der Weise, wie es für seröse Flüssigkeiten im Allgemeinen angegeben ist, untersuchen müssen.

Untersuchung der Milch und des Colostrum.

Zusammensetzung und Verhalten der Milch im Allgemeinen.

297. Die Milch stellt ein in seinen physikalischen Eigenschaften Jedem bekanntes Secret dar, welches in einer schwach gelblich gefärbten Flüssigkeit runde Körperchen von sehr verschiedener, aber stets mikroskopischer Grösse suspendirt enthält, die aus einem bei gewöhnlicher Temperatur nicht völlig flüssigen gelbgefärbten Fette bestehen. Die Flüssigkeit selbst enthält neben wenig löslichen anorganischen Salzen reichlich phosphorsauren Kalk; ihre hauptsächlichen festen Bestandtheile sind Caseïn, Albumin, Milchzucker.

Die Fettkügelchen der Milch scheinen nach Kehrer's*) Untersuchungen einen aus Caseïn bestehenden Ueberzug, den man früher ziemlich allgemein annehmen zu müssen glaubte, nicht zu besitzen. Das Caseïn ist vielmehr nach Kehrer in der Form von kleinen Partikeln und nicht gelöst in der Milch enthalten; ausserdem finden sich nach demselben Beobachter in der Milch Trümmer der die Milch secernirenden Zellen in gequollenem Zustande als ein Schleim, der die Fette der Milch suspendirt erhält.

Die Reaction der menschlichen Milch ist stets im normalen Zustande alkalisch, die der Milch von fleischfressenden Thieren scheint stets sauer zu sein, die Reaction der Kuh- und Ziegenmilch ist bald alkalisch, bald neutral, bald sauer. Die Reaction verändert sich beim Stehen der Milch unabhängig vom Zutritt der Luft. Wenn die Milch

---

*) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1870. No. 35. Arch. f. Gynäkologie. Bd. 2. Heft 1 und Bd. 3. Heft 3.

in ein Glasrohr eingeschmolzen und dann das ganze Glasrohr auf 100° erhitzt wird, bleibt sie stets flüssig, so lange sie eingeschlossen ist, und ihre Reaction ändert sich nicht. War die Milch nicht gekocht, so bilden sich in ihr fortdauernd aus Milchzucker Milchsäure und daneben etwas Alkohol und Kohlensäure, ihre Reaction wird mehr und mehr sauer und bei bestimmtem Säuregrade gerinnt das Caseïn der Milch zur gallertigen Masse. Dieser Process geht um so schneller vor sich, je höher die Lufttemperatur ist. Die gekochte Milch beginnt beim Stehen an der Luft ihre saure Gährung erst nach einiger Zeit. Die saure Gährung wird aufgehoben durch Ausfällen der Milch durch überschüssig zugesetzten Alkohol, ebenso hört sie fast ganz auf, wenn etwa 4 pCt. Milchsäure gebildet sind.

Wenn die Milch ruhig steht, steigt ein grosser Theil der Milchkügelchen an die Oberfläche, ohne dass jemals eine völlige Trennung von Flüssigkeit und Milchkügelchen stattfände. Die fettkügelchenreiche Schicht an der Oberfläche, der Rahm, nimmt unter Veränderung des Caseïn und wie es scheint unter geringer Fettbildung Sauerstoff aus der Luft auf und giebt Kohlensäure aus.

Ueber die Albuminstoffe der menschlichen sowie der Kuhmilch sind sehr verschiedene Angaben gemacht worden. Während man früher Bedenken getragen hat, ausser dem Caseïn noch andere eiweissartige Stoffe anzunehmen, ist die Anzahl der in neuerer Zeit in der Kuhmilch angegebenen Eiweissstoffe schon auf 6 oder 8 gestiegen. Ohne leugnen zu wollen, dass das Caseïn ein Gemenge mehrerer Stoffe darstellen kann, habe ich doch aus der Schilderung von Danilewski*) und einigen nach ihr angestellten eigenen Versuchen die Ueberzeugung nicht gewonnen, dass alle die von ihm unterschiedenen Protalbstoffe und Caseoalbumin im Caseïn der Kuhmilch präformirt enthalten seien. Ich finde überhaupt in den mir bis jetzt bekannt gewordenen Angaben keinen Grund, meine bisherigen Unterscheidungen zu ändern, doch würde es hier zu weit führen, dies im Einzelnen zu begründen.

Alle Milcharten enthalten mehr oder weniger, meist aber nur wenige Promille von einem Albuminstoff, der die vom Serumalbumin oben S. 268 beschriebenen und keine anderen Eigenschaften zeigt, deswegen mit ihm als identisch anzusehen ist. Jede Milchart

---

*) Forschungen auf d. Gebiete d. Viehhaltung v. C. u. P. Petersen 1880. Heft 9. S. 1. Radenhausen, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 13.

enthält ausserdem Caseïn und dies hat noch auf keine Weise unverändert abgetrennt werden können von einem gleichfalls in Kuh- und Ziegenmilch nachgewiesenen Nucleïn. Das Caseïn der menschlichen Milch (vergl. oben S. 285) ist in seinem Verhalten, wahrscheinlich auch in der Zusammensetzung verschieden vom Caseïn der Kuh- und Ziegenmilch, hat aber einige Eigenschaften mit dem Caseïn der Kuhmilch gemein, die beide von anderen Albuminstoffen unterscheiden. Ausserdem befinden sich in der frisch gemolkenen Milch nur Spuren von Pepton, die beim Stehen derselben zunehmen*), bei der Gerinnung durch Lab schnell bedeutend vermehrt werden**).

Die menschliche Milch und ebenso die Kuhmilch sind beim Beginn der Lactation reich an Albumin und arm an Caseïn, arm an Fett und Milchzucker, in den späteren Perioden der Lactation nimmt Caseïn-, Butter- und Milchzuckergehalt zu, bleibt dann lange Zeit für jedes Thier ziemlich constant, ist nur wenig abhängig von der Nahrung, aber doch bei Fleischfressern durchaus anders als bei Pflanzenfressern. Die Milch der letzteren enthält stets ungefähr gleich viel Butter und Caseïn, ein wenig mehr Milchzucker, die Milch der Hunde ist dagegen sehr reich an Fett und Caseïn, sehr arm an Milchzucker; die Milch der Einhufer ist bei Weitem ärmer an Fett als die der Wiederkäuer. Ein geringer Gehalt an Albumin ist in jeder bis jetzt darauf untersuchten Milch durch die ganze Lactation bleibend gefunden.

Die Milch zeigt dieselbe Sonderung in Rahm und an Milchkügelchen arme Milch schon beim Verweilen in der Milchdrüse, so dass bei der Kuh die letzten beim Melken gewonnenen Portionen die butterreichsten sind.

Es würde zu weit führen, die verschiedenen physiologischen Verhältnisse der Milch hier ausführlicher zu besprechen; aus dem Gesagten ergeben sich aber schon einige wichtige praktische Regeln für die Untersuchung.

1) Handelt es sich darum, die Milch eines Thieres mit Rücksicht auf Nahrung, Constitution u. s. w. zu untersuchen, so ist die Drüse ganz leer zu melken.

2) Die gewonnene Milch ist vor der Abmessung einzelner Portionen gut umzuschütteln;

---

*) Schmidt-Mülheim, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 28. S. 287.

**) Eigene Versuche.

3) sie darf nicht lange Zeit bereits gestanden haben, höchstens einige Minuten bis zur Untersuchung.

4) Die Reaction der Milch ist unmittelbar beim Melken zu prüfen.

Qualitative Untersuchung der Milch.

298. Veranlassung zur qualitativen Untersuchung der Milch können die Vermuthungen geben, 1) dass die Milch alt und verdorben, 2) dass sie verfälscht sei, 3) dass ihr pathologisch Stoffe beigemischt seien, die die normale Milch nicht enthält.

Die Milch ändert, wie es im vorigen Paragraphen beschrieben ist, beim Stehen ihre Reaction, sie wird saurer und saurer, aber wenn man die Anfangsreaction derselben nicht kennt, kann man auch durch Prüfung der Reaction nicht erfahren, in wie weit sie eine Veränderung erlitten hat. Auch die Untersuchung der gebildeten Säure kann keine Entscheidung geben, da sauer reagirende eben gemolkene Milch bereits freier Milchsäure diese Reaction verdankt; man erhält durch Fällen mit Alkohol und Extraction des Verdampfungsrückstandes mit Aether freie Milchsäure. Das Verhalten der Milchsäure gegen phosphorsaures Natron ist dem der Hippursäure entsprechend*). Wenn die Milch längere Zeit steht, wird sie so sauer, dass sie deutlich sauer schmeckt, bald aber, nachdem dies bemerkbar wird, gerinnt auch das Caseïn und man kann dann nicht zweifeln, dass eine solche Milch alt und verdorben ist. Schon vor der spontanen Gerinnung erkennt man die Zunahme der Säure an der Gerinnung der Milch beim Kochen oder beim Einleiten von Kohlensäure. Zwar gerinnt schon frische Milch zuweilen beim Kochen, dies ist im Beginn der Lactation auf einige Zeit der Fall, auch später kommt es öfters vor, ohne dass die Milch deshalb für alle Zwecke zu verwerfen wäre, aber sieht man von diesen Ausnahmefällen ab, so erfährt eine frische Milch beim Kochen keine Aenderung, auch wenn vorher Kohlensäure eingeleitet war. Beim längeren Stehen der Milch und Zunahme des Gehaltes an Milchsäure wird zunächst das Caseïn fällbar durch einen Strom von Kohlensäure und nachheriges Erhitzen zum Kochen; kurze Zeit darauf wird das Caseïn durch alleiniges Kochen ohne Anwendung der Kohlensäure fällbar, später wird es durch blosses Einleiten von Kohlen-

*) Vergl. Donath, Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss. Bd. 69. Abth. III. 1874. 7. Januar.

säure gefällt und endlich gerinnt die Milch ohne Kochen und ohne Kohlensäureanwendung. Ist beim Kochen der Milch ein Coagulum entstanden, so kann es fraglich sein, ob dies aus Caseïn oder Albumin besteht; enthält es Caseïn, so war die Milch schlecht, besteht es dagegen nur aus Albumin, so liegt einer der oben bezeichneten Fälle vor. Zur Entscheidung dieser Frage versetzt man eine Probe dieser Milch mit einigen Tropfen einer Lösung von phosphorsaurem Natron, so dass jedoch die Reaction der Milch noch sauer bleibt, schüttelt um und erhitzt nun zum Kochen, enthält die Milch viel Albumin, so gerinnt sie auch jetzt bemerkbar, bestand jedoch die früher erhaltene Gerinnung aus Caseïn, so tritt nach Zusatz von phosphorsaurem Natron keine Coagulation beim Kochen ein. Gerinnt eine neutral oder alkalisch reagirende Milch beim Kochen, so kann das Gerinnsel nur aus Albumin bestehen.

Die einzigen wichtigen Verfälschungen, welchen die Kuhmilch im Handel ausgesetzt ist, sind Zusatz von Wasser und Zusatz von kohlensaurem Natron.

Wo das Brunnenwasser gypsreich ist, kann man durch Nachweis von viel Schwefelsäure in der Milchasche einen Anhaltepunkt für den geschehenen Wasserzusatz finden, da die Kuhmilch nur geringe Spuren davon enthält. Man trocknet zu dieser Untersuchung eine Portion Milch von etwa 50 CC. nach Ausfällen des Caseïn durch etwas Essigsäure und viel Wasser und Filtriren, verkohlt, zieht mit Wasser aus u. s. w., wie es für die Untersuchung der Aschen angegeben ist. Die weiteren Untersuchungen der Milch rücksichtlich des Wasserzusatzes siehe unten §§ 301—309. Wenn zur Verhütung der Gerinnung alter Milch vom Milchhändler, wie es in grossen Städten zu geschehen pflegt, Soda zugesetzt ist, lässt sich der Nachweis der Verfälschung der Milch nur in den Fällen liefern, wo der Händler ziemlich viel davon gebraucht hat, da Spuren von kohlensaurem Alkali in der Milchasche vorkommen. Zur Untersuchung fällt man die Milch (etwa 50 CC.) mit einigen Tropfen Essigsäure und viel Wasser, filtrirt, dampft das Filtrat ein, verkohlt den Rückstand, extrahirt mit Wasser und beobachtet, ob auf Zusatz von Salzsäure zum concentrirten Wasserextracte der Kohle lebhaftes Aufbrausen erfolgt.

Die Vorschrift, zum Zwecke der Auffindung des kohlensauren Natron mit Alkohol zu fällen, zu filtriren, das Filtrat auf ein kleines Volumen zu verdunsten und dann mit Säure zu prüfen, ob Aufbrausen

entsteht, ist unzureichend, wenn nicht sehr grosse Mengen kohlensaures Natron zugesetzt sind.

Von pathologischen qualitativen Aenderungen sind nur das Erscheinen von Blutfarbstoff, Blut- oder Eiterbeimengung beobachtet.

Hämatoglobulingehalt und Blutkörperchengehalt erkennt man an der Farbe, letztere noch durch das Mikroskop. Eine Beimengung von Eiter, wenn sie reichlich ist, möchte sich wohl nur mikroskopisch erkennen lassen. Blaue Flecken auf der stehenden Milch sind oft beobachtet; in denselben finden sich Vibrionen und Byssusvegetationen, der färbende Stoff ist noch nicht untersucht.

Bestimmung des spec. Gewichtes der Milch.

299. Zur genauen Bestimmung des spec. Gewichtes der Milch kann nur die Wägung derselben im Pycnometer nach kurz vor dem Eingiessen ausgeführter sorgfältiger Mischung derselben dienen, weil die Milch keine homogene Flüssigkeit, sondern ein Gemenge einer solchen mit darin suspendirten Fetttröpfchen und Caseintheilchen darstellt (vergl. oben S. 16). Dennoch ist nicht zu leugnen, dass die Prüfung der Milch mit dem Aräometer im frischen Zustande sowie nach dem Abrahmen derselben von Werth für die Beurtheilung der Güte der Milch sich erwiesen hat. Es sind für diesen Zweck, besonders für die polizeiliche Controle der Marktmilch Aräometerspindeln in Gebrauch, auf deren Scala nur die spec. Gewichte von 1,015—1,040 berücksichtigt sind und die nächste Decimalstelle noch abgelesen werden kann (Müller'sche Senkwage, Lactodensimeter).

Man füllt zur Ausführung einfachster Prüfung der Kuhmilch einen graduirten Cylinder von genügendem Durchmesser und hinreichender Höhe mit der frischen Milch, prüft das spec. Gewicht mit dem Aräometer bei ungefähr 15° (gute Kuhmilch zeigt 1,029—1,033 spec. Gew.), nimmt das Aräometer heraus, lässt die Milch zur Rahmabscheidung 24 Stunden stehen, liest die Höhe der gebildeten Rahmschicht ab (bei guter Kuhmilch 10—14 pCt. von der Höhe der ganzen Milch), nimmt dann mit einem Löffelchen vorsichtig den Rahm ab, setzt in die abgerahmte Milch wieder das Lactodensimeter ein und bestimmt das spec. Gewicht, welches bei guter Kuhmilch zwischen 1,0325 und 1,0365 liegen soll.

Bestimmung der einzelnen Bestandtheile der Milch.

Fette Stoffe. Salze.

300. Kaum für eine andere thierische Flüssigkeit sind so viele verschiedene Untersuchungsmethoden empfohlen und angewendet als für die Milch, es würde daher unmöglich sein, hier ohne übermässige Breite auch nur kurz die einzelnen Methoden zu besprechen, und es sollen daher nur die genauesten und die am Schnellsten ausführbaren Methoden ausführlich beschrieben werden.

Die Bestimmung des festen Rückstandes und des Gehaltes der Milch an anorganischen Salzen führt man zweckmässig ganz in der Weise aus, wie es für die serösen Flüssigkeiten in den §§ 260 und 263 beschrieben ist. Sobald die Milch zu trocknen beginnt, färbt sie sich durch eine geringe Zersetzung des amorph bleibenden Milchzuckers bräunlich; der dadurch entstehende Fehler ist zu unbedeutend, als dass es wichtig wäre, ihn zu vermeiden; trocknet man mit der Luftpumpe über Schwefelsäure, so erhält man den Rückstand völlig trocken und natürlich ohne Bräunung, aber dies ist viel umständlicher als die obige Methode. Das Aufsaugen der abgemessenen Milch in Sand auf einem Filter und Trocknen darin, wie es v. Baumhauer*) empfohlen und angewendet hat, wird schnelles Trocknen gestatten, giebt aber zu voluminöse Massen, wenn man sie verkohlen und veraschen will.

Trockne Rückstände von Milch sind sehr hygroskopisch und daher beim Wägen gut bedeckt zu halten.

5—15 CC. Milch wird etwa das beste Volumen sein zu der Bestimmung des Rückstandes und der Asche.

Bestimmung der Durchsichtigkeit der Milch.

301. Den Grad der Durchsichtigkeit der Milch zur Bestimmung des Gehaltes an Milchkügelchen zu benutzen, versuchte zuerst Donné und gab zur Messung der Dicke der Schicht von Milch, durch welche man eine Kerzenflamme gerade noch erkennen könne, ein Instrument, Laktoskop genannt, an. Später hat A. Vogel**) auf dasselbe Princip

*) Journ. f. prakt. Chem. 1861. Bd. 84. T. 145.

**) A. Vogel, Eine neue Milchprobe. Erlangen 1862.

eine Methode gegründet, die ohne Schwierigkeit schnelle Bestimmung gestattet und dann sind mehrere Modificationen dieses Verfahrens beschrieben.

Zu Vogel's Milchprobe sind erforderlich: 1) ein Mischcylinder von mehr als 100 CC. Inhalt, an dessen Wandung durch einen Strich das Mass für 100 CC. Flüssigkeit angegeben ist, 2) eine in $^1/_5$ CC. getheilte, vielleicht 10 CC. oder mehr fassende Pipette und 3) ein Gefäss, zusammengesetzt aus 2 planparallelen Glasplatten, die gerade 5 Mm. von einander entfernt stehen und sich in einer Messingfassung befinden.

Zur Ausführung dieser Probe giesst man in den Mischcylinder 100 CC. klares Brunnenwasser, saugt dann die zu prüfende Milch in die Pipette und lässt bis zum 0-Strich derselben zurückfliessen, bringt dann 3 CC. dieser Milch in die abgemessenen 100 CC. Wasser, mischt gut durcheinander und bringt dann eine Probe der Mischung in das Gefäss mit planparallelen Wandungen und beobachtet durch dasselbe und die enthaltene verdünnte Milch die Flamme einer Stearinkerze, die in ziemlich dunklem Zimmer sich in mässiger Entfernung (etwa 3 Fuss) vom Beobachter befindet. Ist die Contour der Flamme noch deutlich erkennbar, so giesst man die Flüssigkeit in den Mischcylinder zurück, fügt $^1/_2$ CC. Milch hinzu, mischt und untersucht wieder in obiger Weise das Bild der Kerzenflamme durch die verdünnte Milchschicht im Glaskästchen und fährt mit dieser Procedur so lange fort, bis die Umrisse der Flamme nicht mehr erkennbar sind. Man addirt dann die zugesetzten Milchportionen und soll nun nach einer berechneten Tabelle den Fettgehalt der Milch finden.

Da jedoch die Trübung der Milch von sehr verschieden grossen Milchkügelchen und sehr feinen aufgeschwemmten, sich nie klar absetzenden Caseïntheilchen bewirkt wird, kann diese Untersuchung der Durchsichtigkeit nicht für sich allein zur Bestimmung des Fettgehaltes dienen.

Für den Fall, dass nur vergleichungsweise der Gehalt einer Milch an Milchkügelchen bestimmt werden soll, ist es wohl zweckmässiger, in folgender Weise diese Probe auszuführen*): Man verdünnt die zu untersuchende Milch nach gutem Umschütteln mit dem neunfachen Volumen Wasser, indem man 10 CC. der Milch aus einer Bürette in einen graduirten Cylinder fliessen lässt und Wasser hinzufügt, bis

*) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 27. S. 394.

das Volumen der Mischung 100 CC. beträgt. Mit der gut umgeschüttelten Mischung füllt man eine Bürette und lässt in einem der in § 269 geschilderten und in Fig. 17 abgebildeten Glaskästchen 5 oder 10 CC. dieser Mischung einfliessen. Man sieht dann durch diese Flüssigkeit nach einer drei Fuss entfernten Stearinkerzenflamme im mässig dunklen Raume nach der dunklen Seite des Zimmers hingewendet, fügt dann cubikcentimeterweise Wasser hinzu, rührt mit einem Fischbeinstäbchen um und beobachtet durch die Mischung die Flamme, bis man durch die Flüssigkeit die Flamme als blasses leuchtendes Bildchen deutlich erkennt. In 10 CC. der ursprünglichen Mischung befindet sich 1 CC. Milch, waren nun noch 32 CC. Wasser hinzugefügt, bis das Flammenbild erkennbar wurde, so war im Ganzen 1 CC. Milch mit 41 CC. Wasser verdünnt, um das Flammenbildchen sichtbar zu machen. 1 CC. guter Kuhmilch muss mit 70—75 CC. Wasser verdünnt werden, um durch eine 1 Cm. dicke Schicht der Mischung eine Kerzenflamme sichtbar werden zu lassen. Abgerahmte Milch giebt häufig bei einem Zusatz von 18—20 CC. Wasser bereits so durchsichtige Mischung, dass man durch eine 1 Cm. dicke Schicht dieser Flüssigkeit die Kerzenflamme sieht.

Einen recht brauchbaren einfachen Apparat für denselben Zweck hat Feser angegeben, bestehend aus einem weiten cylindrischen Glasrohr mit Graduirung, unten am geschlossenen Ende zu einem engeren Cylinder verschmälert, in welchem sich ein feststehender Milchglascylinder mit schwarzen Strichen befindet. Man verdünnt 4 CC. Milch so lange mit Brunnenwasser, bis man die schwarzen Linien auf dem Milchglascylinder deutlich sieht.

Zahlreiche andere Apparate und Vorschläge für diesen Zweck können hier umsomehr übergangen werden, als es sich nicht um Bestimmung chemischer Stoffe handelt.

Bestimmung des Caseïn, des Albumin und des Milchzuckers und der Fette.

302. Die Ausfällung der Albuminstoffe bietet unüberwindliche Schwierigkeiten, sobald man die Milch nicht verdünnt; fügt man dagegen so viel Wasser hinzu, dass die Milch auf ihr 20 faches Volumen verdünnt wird, so ist eine völlige Ausfällung des Caseïn und nachher des Albumin in der Kuh- und Ziegenmilch leicht zu erreichen.

Es ist daher zur Bestimmung des Caseïn und Albumin folgendes Verfahren anzuempfehlen und durch zahlreiche Versuche geprüft:

Man lässt von der zu untersuchenden Milch nach Umschütteln aus einer Bürette 20 CC. in einen graduirten Cylinder fliessen und verdünnt mit Wasser, bis das Volumen der Mischung 400 CC. beträgt, giesst diese verdünnte Milch in ein hinreichend hohes Becherglas aus, fügt unter Umrühren sehr verdünnte Essigsäure tropfenweise hinzu, so lange bis ein flockiger Niederschlag sich zeigt, leitet dann durch die Flüssigkeit einen Strom CO_2 $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde lang hindurch und lässt nun einige bis 12 Stunden zur Klärung stehen. Es ist zweckmässig, drei solcher Portionen in dieser Weise zu behandeln und die bestgelungene für die weitere Bearbeitung auszuwählen: Das Caseïn setzt sich mit der Butter als faserig-flockiger Niederschlag zu Boden; man filtrirt zuerst die klare Flüssigkeit durch gewogenes Filter, sammelt dann mit zurückgegossenen Portionen des Filtrats den Niederschlag auf diesem Filter, wäscht dann einmal mit Wasser aus. Im Filtrate befinden sich Albumin, Zucker, etwas gelöstes Caseïn und Spuren von Pepton.

Der Niederschlag wird zur Trennung der Butter vom Caseïn noch ganz feucht einmal mit kaltem Alkohol gewaschen zur Austreibung des Wassers, dann mit mindestens 6—8 Portionen Aether. Man kann sich hierzu sehr wohl des Thorn'schen Aetherextractionsapparates (vergl. oben S. 6) bedienen, der sehr gut extrahirt und viel Aether erspart. Man vereinigt mit etwas Aether den Verdampfungsrückstand des Alkoholauszugs mit dem des Aethers, trocknet bei mässiger Wärme und wägt die Butter. Der mit Alkohol und Aether von Fett befreite Caseïnniederschlag wird darauf mit dem Filter im Luftbade bei 120—125° getrocknet, über Schwefelsäure erkalten gelassen und gewogen, dann im Platintiegel verascht unter Zusatz von einer kleinen gewogenen Menge Eisenoxyd und das Gewicht der Asche in Abzug gebracht.

Das wässrige Filtrat wird in einer geräumigen Porcellanschale zum Sieden erhitzt und einige Minuten im Sieden erhalten. Ist der Niederschlag von Albumin, der sich hierbei bildet, nicht gut flockig abgeschieden, so kann man vorsichtig nach Schmidt-Mülheim noch ein paar Tröpfchen verdünnte Essigsäure hinzufügen. Man sammelt dann den Albuminniederschlag auf kleinem gewogenen Filter, wäscht ihn mehrmals mit kaltem Wasser, trocknet dann bei 120—125° und wägt. Die gesammelten Filtrate und Waschwasser werden nach dem Erkalten gut gemischt und gemessen. Man füllt damit eine Bürette und titrirt mit der Flüssigkeit 20 CC. Fehling'scher Lösung, wie

es in § 248 für den Harn angegeben ist, misst die noch übrige Flüssigkeit, die hierzu nicht gebraucht wurde, dampft sie bei mässiger Wärme zum dünnen Syrup ein, sammelt die abgeschiedene Portion Caseïn auf kleinem gewogenen Filter, wäscht sie 5—8 mal mit kaltem Wasser, trocknet das Filter mit dem Niederschlag bei 120—125°. Soll ausserdem auch das Pepton bestimmt werden, so ist dasselbe im Filtrate durch Gerbsäure oder Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure zu fällen und der Gerbsäureniederschlag mehrmals mit Wasser und dann mit Alkohol auf dem gewogenen Filterchen zu waschen, der phosphorwolframsaure Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Wasser zu waschen, mit Barytwasser zu zersetzen u. s. w., nach § 188, Darstellung der Peptone. Soll jedoch Pepton bestimmt werden, so sind 50—100 Ccm. Milch dazu zu verwenden, da sonst die Quantität zu gering wäre.

Die Berechnung der Resultate ist leicht ersichtlich. Die gefundene Menge des Caseïns im Theil des Filtrates wird auf das ganze Filtrat berechnet und der Menge des ursprünglich durch Essigsäure und CO_2 gefällten Caseïn zugezählt. Die Quantität des Peptons wird in gleicher Weise vom Theil des Filtrats auf das Ganze übergerechnet. Da 20 CC. Fehling'scher Lösung zur völligen Reduction des Kupferoxyds 0,134 Grm. Milchzucker erfordern, ist der Milchzuckergehalt des ganzen Filtrats leicht zu berechnen. Albumin sowie Fett werden gleich für die ganzen 20 CC. Milch bestimmt. Man berechnet die Resultate für 100 CC. Milch oder berechnet nach dem spec. Gewicht der Milch für 100 Grm. derselben. Es ist auch nicht unzweckmässig, die abgemessenen Portionen Milch von 20 CC. zu wägen.

Diese umfassende Methode der Bestimmung der Hauptbestandtheile der Milch ist viel benutzt für verschiedene Milcharten von Thieren; für menschliche Milch ist sie nicht anwendbar, weil das Caseïn dieser Milch mit Wasser, Essigsäure und CO_2 nur unvollkommen gefällt wird. Von einigen physiologischen und landwirthschaftlichen Chemikern ist sie geradezu als fehlerhaft verworfen. Sie kann recht schlechte Resultate liefern, wenn man nachlässig arbeitet, aber bei sorgfältiger Ausführung giebt sie recht genaue Werthe. Man hat ihr die Stickstoffbauschbestimmung gegenübergestellt, die mit dem Verdampfungsrückstand des Blutserums ausgeführt für die Eiweissstoffe desselben wohl ebenso genaue Resultate ergeben wird, wie für die der Milch; ein solches rohes Verfahren ist nur für gröbere Stoffwechselversuche zulässig. Neuere Bestimmungen von Chri-

stenn*) und mit leichter Modification, die auch hier berücksichtigt ist, von Schmidt-Mülheim**) haben wie meine wiederholten Versuche nur gute Resultate gegeben.

Bestimmung des festen Rückstandes, der Albuminstoffe und der unlöslichen Salze, des Alkoholextractes und der Fette der Milch. Methode von Haidlen.

303. Reiner gebrannter Gyps wird mit viel Wasser angerührt, auf dem Filter gesammelt, bei 105—110 ° (nicht höher) getrocknet und fein gerieben, 15—20 CC. Milch werden darauf in eine (nebst Uhrglas als Deckel) gewogene kleine Porcellanschale abgemessen oder darin gewogen, dann mit einer genau abgewogenen Quantität des getrockneten Gypses (etwa 1—3 Grm.)***) gemengt, über einer kleinen Flamme zum Sieden erhitzt, auf dem Wasserbade oder im Luftbade bei 105—110 ° oder besser mit der Luftpumpe über Schwefelsäure zur völligen Trockne gebracht und der Rückstand gewogen. Das Gewicht des Rückstandes der Milch ergiebt sich dann durch Subtraction des Gypsgewichtes, das zugemengt war, vom erhaltenen Gewichte des trockenen Rückstandes.

Man zerreibt dann in einer Reibschale die trockne Masse, bringt sie in ein trocknes nebst Stopfen gewogenes Kölbchen, schüttet eine Quantität Aether auf das Pulver, verschliesst das Kölbchen, schüttelt um und lässt einige Zeit stehen, filtrirt dann durch ein gewogenes Filter, indem man das ungelöst gebliebene Pulver möglichst im Kolben zurücklässt. Man wiederholt das Ausziehen und Nachwaschen mit Portionen von Aether so lange, bis einige Tropfen des filtrirten Aethers auf einem Uhrglase verdunstet keinen merklichen Rückstand mehr lassen und wäscht dann auch das Filter, besonders dessen Rand noch mit Aether aus. Man trocknet darauf Kolben, Pulver und Filter im Luftbade oder mittelst der Luftpumpe und wägt (das Filter gut eingeschlossen, vergl. § 7), giesst starken Alkohol auf das Pulver im Kölbchen, erhitzt zum schwachen Kochen, filtrirt durch dasselbe Filter,

---

*) G. Christenn, Vergleichende Untersuchungen über die gegenwärtigen Methoden der Analyse der Milch etc. Diss. Erlangen 1876.

**) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 28. S. 243.

***) Statt des Gypses hat Trommer gepulverten Marmor empfohlen. Dieser Zusatz ist vorzuziehen, wenn es sich nur um die Bestimmung des festen Rückstandes und des Fettes handelt.

durch welches das Aetherextract filtrirt war und wäscht mit neuen Portionen Alkohol Pulver und Filter, zuletzt das Filter allein mit der Spritzflasche, trocknet dann abermals Kölbchen, Filter und Rückstand in obiger Weise und wägt.

Das Aether- sowie das Alkoholextract verdunstet man dann gesondert auf dem Wasserbade, endlich im Luftbade bei 110° zur völligen Trockne, wägt den Rückstand. Endlich bringt man den Alkoholextractrückstand mit etwas Wasser in eine gewogene kleine Porcellanschale, dampft im Wasserbade zur Trockne ein, verascht die trockne Masse bei mässiger Hitze und wägt die Asche.

Der Verdampfungsrückstand der Milch mit dem beigemengten Gyps war gewogen vor und nach der Extraction mit Aether, ebenso endlich nach der Extraction mit Alkohol; es ist nun einleuchtend, dass die Differenzen der Gewichte dieser Rückstände die Gewichte derjenigen Stoffe darstellen, welche durch Alkohol und vorher durch Aether ausgezogen waren. Da man nun durch Verdunsten des Aether- und des Alkoholauszuges und Wägen des Rückstandes noch einmal diese Gewichte bestimmt, hat man hierdurch eine Controle für die Richtigkeit der indirecten Bestimmung. Das Aetherextract enthält im Wesentlichen nur die Fette der Milch, das Alkoholextract Salze und Milchzucker; verascht man den Alkoholauszugsrückstand, wägt die Asche und zieht ihr Gewicht vom Gewichte des Alkoholextractrückstandes ab, so erhält man als Rest einen ungefähren Ausdruck des Gewichtes von Milchzucker in der untersuchten Quantität Milch.

Hat man in einer anderen Portion Milch den Salzgehalt derselben durch directe Veraschung ermittelt, so kann man durch Subtraction der durch Alkohol gelösten Salze von der Summe der Salze in einer bestimmten Milchportion das Gewicht der Salze ermitteln, welche neben Albumin, Caseïn und Gyps sich in den in Alkohol und Aether unlöslichen Stoffen befanden, und subtrahirt man dann diesen Rest, sowie das Gewicht des Gypses von dem summarischen Gewichte von Caseïn, Albumin, Gyps, Salzen, so erhält man ziemlich genau das Gewicht von Caseïn + Albumin.

Diese allerdings sehr umständliche Methode, die auch sehr vorsichtiges Arbeiten und anhaltendes Trocknen verlangt, liefert für die Bestimmung der Fette genaue Resultate; da aber Milchzucker in Alkohol sehr schwer löslich ist, sind grosse Mengen heissen Alkohols zur Extraction des Milchzuckers erforderlich und die Milchzuckerbestimmung ist auch deshalb nicht genau, weil der Alkohol auch andere Stoffe, z. B. milchsaure Salze auszieht.

Bestimmung der Summe der Eiweissstoffe durch Fällung mit Alkohol.

304. Man fügt zu einer gemessenen oder bedeckt gewogenen Portion der gut gemischten Milch von ungefähr 20 CC. verdünnte Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction, dann das 4fache Volumen starken kalten Alkohol, rührt gut um, lässt eine Stunde lang sich absetzen und filtrirt darauf durch gewogenes Filter. Der Niederschlag wird mit kaltem 60procentigem Alkohol 6—8 mal gewaschen, dann noch sorgfältig mit Aether gewaschen, getrocknet bei 120—125° und gewogen. Ein kleiner Theil der Eiweissstoffe geht hierbei in den Alkohol über. Das alkoholische Filtrat wird auf kleines Volumen abgedampft, dann mit kaltem 60procentigem Alkohol der Niederschlag auf ein kleines gewogenes Filter gebracht, erst mehrmals mit 60procentigem Alkohol, dann mit Aether gut gewaschen. Die jetzt abfiltrirte Flüssigkeit wird abermals abgedampft auf kleines Volumen, in Wasser gelöst mit Gerbsäure gefällt, der Niederschlag auf gewogenes Filter gebracht, zuerst mit Wasser, dann mit Alkohol und Aether gewaschen, bei 120° getrocknet und gewogen. Die drei Niederschläge zusammen enthalten alle Eiweissstoffe der Milch. Dieselben sind mit den Filtern zu veraschen, zu wägen und unter Berücksichtigung der Asche der Filter die feuerbeständigen Salze vom Gewicht der Eiweissstoffe in Abzug zu bringen.

Diese Methode giebt zu niedrige Werthe, wenn die Gerbsäurefällung unterlassen wird. Sie ist nur zu benutzen, wenn wie bei der menschlichen Milch die in § 302 beschriebene Methode nicht anwendbar ist.

Bestimmung der Summe der Eiweissstoffe durch Fällung derselben mit Kupfersulfat nach Ritthausen*).

305. Es werden 20 oder 10 CC. Milch auf das 20fache Volumen mit Wasser verdünnt, 10 resp. 5 CC. einer Lösung von 63,5 Grm. reinem krystallisirtem Kupfersulfat in Wasser zu einem Liter verdünnt hinzugefügt und dann verdünnte Kali- oder Natronlauge so lange vorsichtig hinzugetropft, bis die Flüssigkeit neutrale aber eher noch ein wenig saure als alkalische Reaction zeigt. Wird ein wenig zu viel Alkalilauge hinzugefügt, so löst sich Caseïnkupfer auf. Bei richtig neutraler Reaction setzt sich der Niederschlag gut ab und die Flüssig-

---

*) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 15. S. 329.

keit enthält auch kein Kupfer mehr. Es wird dann erst die klare Flüssigkeit durch gewogenes Filter abfiltrirt, der Niederschlag durch Aufrühren in Wasser und Decantiren gewaschen, dann der Niederschlag selbst mit Waschwasser aufs Filter gebracht. Der Niederschlag hat das gesammte Fett der Milch in sich aufgenommen und dies wird davon in derselben Weise getrennt, wie es oben § 302 vom Caseïnniederschlag beschrieben ist. Nach der Aetherextraction wird der Niederschlag noch mit absolutem Alkohol gewaschen, damit er als hellblaue erdige und nicht als glasige harte, schlecht zu trocknende Masse erhalten wird. Filter und Niederschlag werden dann bei 125° getrocknet, gewogen, verascht, der Glührückstand gewogen und von dem Gewicht des Niederschlags in Abzug gebracht. Die Differenz beider Gewichte wird als Albuminstoffe der Milch gerechnet. Die vom Niederschlage abfiltrirte Flüssigkeit kann wie in § 302 zur Bestimmung des Milchzuckers durch Titriren mit Fehling'scher Lösung dienen, die Alkohol- und Aetherfiltrate geben beim Verdunsten den Gehalt der Milch an Fett.

Diese Methode muss ein wenig zu hohe Werthe für die Eiweissstoffe ergeben, weil nach den gegebenen Vorschriften auch basisches Kupfersulfat gefällt werden muss, dessen Wasser (20 pCt.) erst über 125° durch Erhitzen ausgetrieben wird.

Bestimmung des Albumins und des Peptons in der Milch nach Fällung mit Magnesiumsulfat, besonders für menschliche Milch zu verwenden.

306. Wird menschliche Milch, Kuh- oder Ziegenmilch mit krystallisirtem Magnesiumsulfat bis zur vollständigen Sättigung versetzt, so wird das Caseïn vollständig abgeschieden, das Albumin nicht gefällt. Hierdurch wird es möglich, den Albumingehalt auch in der menschlichen Milch zu bestimmen. Man misst oder wägt von der gut gemischten Milch 10—20 CC. ab, fügt dazu das 3—4fache Volumen gesättigter Lösung von Magnesiumsulfat und pulverisirtes krystallisirtes Bittersalz so lange als Lösung erfolgt und noch einen kleinen Ueberschuss, lässt unter häufigem Umrühren einige Stunden stehen, filtrirt dann, was ziemliche Zeit in Anspruch nimmt, und wäscht 6—8 mal mit Portionen von gesättigter Bittersalzlösung das Becherglas und Filter aus. Die gesammelten Filtrate werden dann mit etwas Wasser versetzt, ein paar Tropfen Essigsäure hinzugefügt, zum Sieden erhitzt und einige Minuten im Sieden erhalten, dann durch gewogenes Filter

filtrirt, der Niederschlag gut mit Wasser gewaschen, zuletzt mit etwas Alkohol, Niederschlag und Filter bei 120—125° getrocknet, gewogen, verascht, der Glührückstand vom Gewichte des Niederschlags in Abzug gebracht. Im Filtrate kann mit Gerbsäure oder mit Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure, wie in § 302 angegeben ist, das Pepton gefällt und bestimmt werden. Ist die Peptonbestimmung beabsichtigt, so sind 50—100 CC. Milch statt 10—20 CC. zu verwenden.

Bestimmung des Fettes in der Milch.

I. Wägungsmethoden.

307. Die in § 302—305 beschriebenen Methoden gestatten auch genaue Bestimmung der Fette der Milch, sind aber umständlich, wenn es sich lediglich um die Fettbestimmung handelt. Die Milch unabgedampft giebt beim Schütteln mit Aether nur langsam das Fett vollständig ab, dies geschieht aber sofort, wenn etwas Natronlauge zur Milch hinzugefügt ist. Man erhält sehr leicht und schnell gute Fettbestimmung, wenn man in gut verschliessbarer Flasche 30 CC. Milch mit 1,5 CC. starker Kalilauge von 1,27 spec. Gewicht versetzt, 100 CC. Aether hinzufügt, vorsichtig unter drehender Bewegung beide Flüssigkeiten in ausgedehnte Berührung bringt und diese Mischung häufig wiederholt. Die alkalische Flüssigkeit unten wird ganz klar, man giesst die Aetherlösung durch Trichter in einen geräumigen Kolben ab, giesst neue Portionen Aether auf die alkalische wässrige Lösung, mischt und giesst nach kurzem Stehen ab, bis eine Probe der abgegossenen Aetherlösung im Becherglase verdunstet keinen beachtenswerthen Fettrückstand mehr lässt, destillirt auf dem Wasserbade den Aether bis auf kleines Volumen ab, giesst den Rückstand nach Erkalten in ein kleines Becherglas aus, wäscht mit Portionen Aether den Kolben aus, bringt alle diese Portionen gleichfalls in das Becherglas lässt den Aether verdunsten, trocknet den Rückstand bei mässiger Temperatur und wägt nach Erkalten über Schwefelsäure.

Noch einfacher ist folgende Methode: Zu 20 CC. Milch fügt man 1 CC. Kalilauge von 1,27 spec. Gewicht. Dann 80 CC. Aether, welcher in verschlossener Flasche bereits mit Wasser gesättigt ist. Man schüttelt gut und wiederholt um und lässt die Flüssigkeit dann stehen. Die ätherische Lösung scheidet sich bald klar ab. Man giesst dann von der Aetherfettlösung schnell in einen Messcylinder soweit als möglich klar ab (60 CC. und mehr lassen sich meist schnell und völlig

rein abgiessen), liest das Volumen ab, giesst in ein gewogenes Becherglas aus, spült mit kleinen Aetherportionen den Messcylinder aus und giesst sie gleichfalls in das Becherglas, lässt den Aether bei mässiger Wärme verdunsten, trocknet und wägt den Rückstand. Aus dem Gehalte der abgegossenen Aetherlösung an Fett berechnet man dann den Gehalt von 80 CC. Aether, die aufgegossen waren, und findet hierdurch den Fettgehalt der 20 CC. Milch. Die Milchlaugemischung nimmt nur sehr geringes Aethervolumen auf, so dass eine Correction unnöthig ist.

Diese Methode habe ich mehrmals mit Kuhmilch und menschlicher Milch mit recht gutem Resultate geprüft. Ich bin zu dieser Modification meiner obigen Methode geführt durch die vortreffliche im Folgenden zu schildernde spec. Gewichtsmethode von Soxhlet.

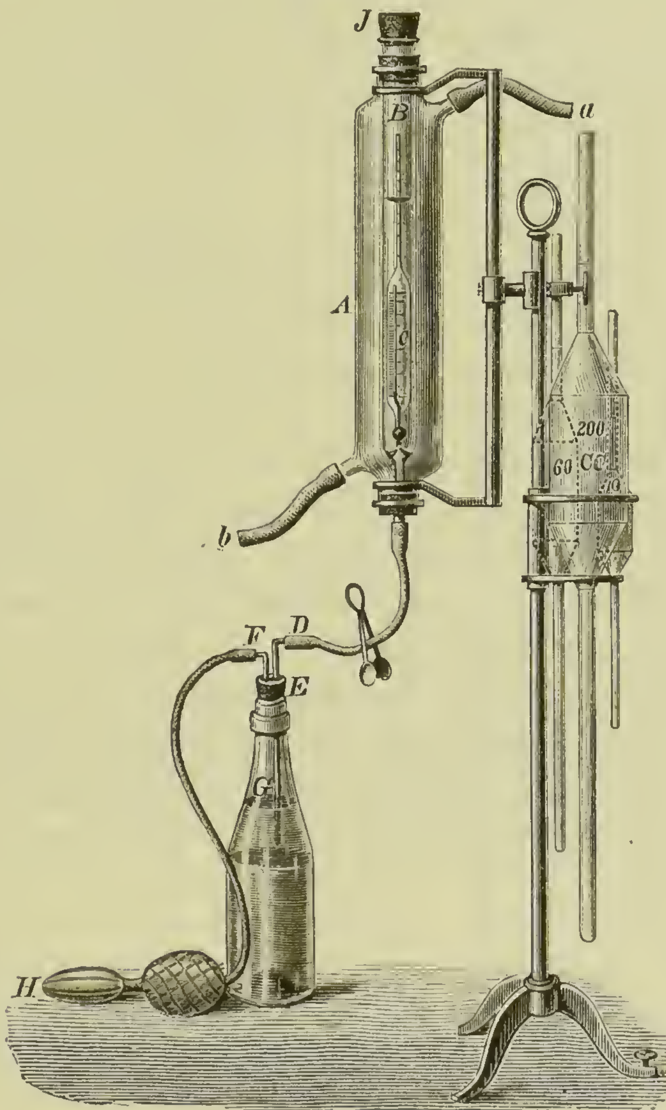
II. Bestimmung des Fettgehaltes der Milch durch Messung des spec. Gewichts der Fettlösung in Aether von Soxhlet.

308. Für die Ausführung der Bestimmung des Fettgehaltes in der Milch sind erforderlich: 1) eine Pipette von 200 CC., eine andere zu 60 CC. und eine dritte zu 10 CC. Inhalt; 2) mehrere schlanke Mischflaschen von $^1/_2$ Liter Inhalt; 3) ein feines Aräometer mit Thermometer zu der Messung des spec. Gewichtes der Aetherfettlösung in einem Apparat mit Kühlvorrichtung durch Wasser von constanter Temperatur; 4) ein kleines Kautschukgebläse zum Uebertreiben der Aetherlösung aus der Mischflasche in den Apparat. Diese Apparate (welche von Johannes Greiner in München vortrefflich ausgeführt und genau geprüft bezogen werden) sind in ihrer Zusammensetzung während einer Bestimmung dargestellt in Fig. 18. Von Reagentien sind für den Versuch erforderlich: 1) Kalilauge von 1,27 spec. Gewicht (400 Grm. Aetzkali in Wasser gelöst, nach dem Erkalten zu einem Liter Lösung verdünnt); 2) Aether mit $^1/_{10}$—$^2/_{10}$ Vol. Wasser durchgeschüttelt und dann klar abgegossen; 3) eine Quantität von ungefähr 4 Liter Wasser von 17—18° C. in entsprechend grossem Gefäss.

Die zu untersuchende Milch wird auf 17—18° erwärmt resp. abgekühlt und gut umgeschüttelt. Mit einer Pipette werden 200 CC. von derselben abgemessen und in eine 300 CC. haltende Flasche gebracht, mit einer Pipette 10 CC. obiger Kalilauge hinzufliessen gelassen, umgeschüttelt, mittelst einer dritten Pipette 60 CC. von wasserhaltigem Aether von 17,5—18,5° hinzugemessen, sofort die Mischflasche mit

Kautschukstopfen verschlossen, $^1/_2$ Minute lang des Inhalt gut durchgeschüttelt, in das Wasser von 17—18° eingesetzt und $^1/_4$ Stunde darin gelassen, dabei von halber zu halber Minute leicht durchgeschüttelt (3—4 senkrechte Stösse). Man lässt dann noch $^1/_4$ Stunde ruhig stehen. Die Abscheidung der Aetherschicht wird durch einige drehende Bewegungen der Flasche beschleunigt. Meist wird sich in der angegebenen Zeit eine genügende klare Aetherschicht oben angesammelt haben, nur sehr fettreiche Milch erfordert längere Zeit, selbst 1—2

Fig. 18.



Stunden. Ist diese Aetherschicht genügend abgeschieden, so beginnt die Bestimmung des spec. Gewichtes dieser Aetherlösung mit dem Aräometer.

Man füllt zunächst durch Ansaugen am Kautschukschlauch bei *a*, während der Schlauch *b* in Wasser von 17—18° eingesetzt ist, das

Kühlrohr *A* voll Wasser, setzt auf die Milch, Kalilauge und Aether enthaltende Schüttelflasche den doppeltdurchbohrten Stopfen *E*, schiebt das rechtwinklig gebogene Glasrohr *D* bis in die unterste Schicht reiner Aetherlösung, verbindet durch Kautschukschlauch *D* mit dem untern Ende des Rohrs *B*, in welchem sich das Aräometer *C* befindet und setzt den Quetschhahn auf den Kautschukschlauch. An das kurze, dicht unter dem Stopfen *E* mündende, rechtwinkelige Glasrohr *F* fügt man den Kautschukschlauch, welcher die Mischflasche *G* mit dem kleinen Kautschukblasebalg *H* verbindet, lüftet ein wenig den Kautschukstopfen *J* auf dem Rohre *B* und lässt nun durch Druck auf den Blasebalg *H* unter geringer Oeffnung des Quetschhahns einen genügenden Theil der Aetherlösung in *B* aufsteigen, so dass das Aräometer schwimmt, schliesst schnell den Quetschhahn, stellt den Apparat gut senkrecht durch Regulirung mit der Schraube am Fusse des Stativs und liest den Stand des Niveaus der Aetherlösung an der Scala des Aräometers und den Stand des Quecksilber am kleinen Thermometer des Aräometer ab. Dann ist die Beobachtung beendet. Ist die Temperatur der Aetherlösung 17,5°, so ist keine Correctur des spec. Gewichtes nöthig, im andern Falle ist für jedes Zehntel Grad, den das Thermometer höher steht als 17,5° zur Angabe des Aräometers 1° hinzuzufügen und für jedes Zehntel Grad, den es tiefer zeigt 1° von der Angabe des Aräometer abzuziehen. Aus der nachstehenden Tabelle ergiebt sich der dem gefundenen spec. Gewichte der Aetherlösung entsprechende Fettgehalt der Milch. Die als spec. Gewichte angegebenen Zahlen der Tabelle sind die Ergänzungen für 0,7000 in der zweiten bis vierten Decimalstelle; 43,0 entspricht also dem wirklichen spec. Gewichte 0,7430. Das Rohr *B*, das Röhrchen *D* und der sie verbindende Schlauch werden nach jedem Versuche mit Aether gereinigt.

Tabelle
angebend den Fettgehalt der Milch in Gewichtsprocenten nach dem specifischen Gewicht der Aetherfettlösung bei 17,5° Cels.

Spec. Gew.	Fett. pCt.	Spec. Gew.	Fett. pCt.	Spec. Gew.	Fett. pCt.	Spec. Gew.	Fett. pCt.	Spec. Gew.	Fett. pCt.	Spec. Gew.	Fett. pCt.
43	2.07	**47**	2.52	**51**	3.00	**55**	3.49	**59**	4.03	**63**	4.63
43.1	2.08	47.1	2.54	51.1	3.01	55.1	3.51	59.1	4.04	63.1	4.64
43.2	2.09	47.2	2.55	51.2	3.03	55.2	3.52	59.2	4.06	63.2	4.66
43.3	2.10	47.3	2.56	51.3	3.04	55.3	3.53	59.3	4.07	63.3	4.67
43.4	2.11	47.4	2.57	51.4	3.05	55.4	3.55	59.4	4.09	63.4	4.69
43.5	2.12	47.5	2.58	51.5	3.06	55.5	3.56	59.5	4.11	63.5	4.70
43.6	2.13	47.6	2.60	51.6	3.08	55.6	3.57	59.6	4.12	63.6	4.71
43.7	2.14	47.7	2.61	51.7	3.09	55.7	3.59	59.7	4.14	63.7	4.73
43.8	2.16	47.8	2.62	51.8	3.10	55.8	3.60	59.8	4.15	63.8	4.75
43.9	2.17	47.9	2.63	51.9	3.11	55.9	3.61	59.9	4.16	63.9	4.77
44	2.18	**48**	2.64	**52**	3.12	**56**	3.63	**60**	4.18	**64**	4.79
44.1	2.19	48.1	2.66	52.1	3.14	56.1	3.64	60.1	4.19	64 1	4.80
44.2	2.20	48.2	2.67	52.2	3.15	56.2	3.65	60.2	4.20	64.2	4 82
44.3	2.22	48.3	2.68	52.3	3.16	56.3	3.67	60 3	4.21	64.3	4.84
44.4	2.23	48.4	2.70	52.4	3.17	56.4	3.68	60.4	4.23	64 4	4.85
44.5	2.24	48.5	2.71	52.5	3.18	56.5	3.69	60.5	4.24	64 5	4.87
44.6	2.25	48.6	2.72	52.6	3.20	56.6	3.71	60.6	4.26	64.6	4.88
44.7	2.26	48.7	2.73	52.7	3.21	56.7	3.72	60.7	4.27	64.7	4.90
44.8	2.27	48.8	2.74	52.8	3.22	56.8	3.73	60.8	4.29	64.8	4.92
44.9	2.28	48.9	2.75	52.9	3 23	56.9	3.74	60.9	4.30	64.9	4.93
45	2.30	**49**	2.76	**53**	3.25	**57**	3.75	**61**	4.32	**65**	4.95
45.1	2.31	49.1	2.77	53.1	3.26	57.1	3.76	61.1	4.33	65.1	4.97
45.2	2.32	49.2	2.78	53.2	3.27	57.2	3.78	61.2	4.35	65 2	4.98
45.3	2.33	49.3	2.79	53.3	3.28	57.3	3.80	61.3	4 36	65 3	5.00
45.4	2.34	49.4	2.80	53.4	3 29	57.4	3.81	61.4	4.37	65.4	5.02
45.5	2.35	49.5	2.81	53.5	3.30	57.5	3.82	61.5	4.39	65.5	5.04
45.6	2.36	49.6	2.83	53.6	3.31	57.6	3.84	61.6	4.40	65.6	5.05
45.7	2.37	49.7	2.84	53.7	3.33	57.7	3.85	61.7	4.42	65.7	5.07
45.8	2.38	49.8	2.86	53.8	3.34	57.8	3.87	61.8	4.44	65.8	5.09
45.9	2.39	49.9	2.87	53.9	3.35	57.9	3.88	61.9	4.46	65.9	5.11
46	2.40	**50**	2.88	**54**	3.37	**58**	3.90	**62**	4.47	**66**	5.12
46.1	2.42	50.1	2.90	54.1	3.38	58.1	3.91	62.1	4.48		
46.2	2.43	50.2	2.91	54.2	3.39	58.2	3.92	62.2	4 50		
46.3	2.44	50.3	2.92	54.3	3.40	58.3	3.93	62.3	4.52		
46.4	2.45	50.4	2.93	54.4	3.41	58.4	3.95	62.4	4.53		
46.5	2.46	50.5	2.94	54 5	3.43	58.5	3.96	62.5	4.55		
46.6	2.47	50.6	2.96	54.6	3.45	58.6	3.98	62.6	4.56		
46.7	2.49	50.7	2.97	54.7	3.46	58.7	3.99	62.7	4.58		
46.8	2 50	50.8	2.98	54.8	3.47	58.8	4.01	62.8	4.59		
46.9	2.51	50.9	2.99	54.9	3.48	58.9	4.02	62.9	4.61		

Zahlreiche Vorschläge für eine schnelle Bestimmung des Fettgehaltes der Milch nach einer im Wesentlichen zuerst von Marchand angegebenen Methode der Mischung von Milch mit Aether und Alkohol in bestimmten Volumina und Ablesen der gebildeten Aetherfettschicht können hier übergangen werden, nur ist zu erwähnen, dass nach F. Schmidt und Tollens*) das Lactobutyrometer von Marchand zur schnellen und genügend genauen Bestimmung des Fettes der Milch benutzt werden kann nach folgendem Verfahren. In das Rohr werden 10 CC. Milch eingegossen, 3—5 Tropfen einer 5 procentigen Essigsäure hinzugefügt, stark umgeschüttelt, dann 10 CC. Aether hinzugefügt, durch Stopfen das Rohr verschlossen, gut umgeschüttelt, darauf 10 CC. Alkohol von 90—92 pCt. hinzugefügt, gut umgeschüttelt, in Wasser von 40—45° gesetzt, so lange noch kleine Fetttröpfchen aufsteigen, dann in Wasser von 20° gebracht, darin schliesslich, wenn die Lösung klar geworden ist, die Höhe der Aetherfettschicht abgelesen und nach einer Tabelle aus dem Volumen dieser Schicht der Fettgehalt bestimmt. Die Methode von Soxhlet ist dieser modificirten Marchand'schen Methode ohne Zweifel vorzuziehen.

Bestimmung des Milchzuckergehaltes der Milch.

1) Durch Circularpolarisation.

309. Von der gut gemischten Milch werden 50 CC. abgemessen in einen Kolben von 150 CC. Inhalt, 25 CC. einer Lösung von neutralem Bleiacetat hinzugefügt, umgeschüttelt, der Kolben mit einem durchbohrten Kork geschlossen, in dessen Bohrung das untere Ende eines geraden, an beiden Enden offenen Glasrohrs von ungefähr 30 Cm. Länge steckt. Man erhitzt dann die Mischung im Kolben zum Sieden, lässt aber nur einmal aufkochen, so dass der entwickelte Wasserdampf sich im Glasrohr vollständig condensirt und dann wieder zurückfliesst. Nach dem vollständigen Erkalten wird filtrirt, und wenn das Filtrat noch nicht ganz klar sein sollte, öfter filtrirt, bis die Flüssigkeit klar ist. Man füllt mit der Flüssigkeit ein 200 Mm. langes Beobachtungsrohr und bestimmt am Besten bei 20° C. mit einem der oben in § 22—25 beschriebenen Apparate den Rotationswinkel. Ist die spec. Drehung des Milchzuckers ($C_{12}H_{24}O_{12}$) bei dieser Temperatur (vergl. oben S. 125) für Natriumlicht $= + 52{,}53^0$, so enthält die Milch, wenn a der abgelesene Winkel und die Länge des Beobachtungsrohrs = 200 Mm. ist, in 100 CC. ein Gewicht Milchzucker

$$= a \cdot \frac{100}{52{,}53} \cdot \frac{1}{2} \cdot \frac{3}{2} = a \,.\, 1{,}4277 \text{ Grm.}$$

Wird die Bestimmung ausgeführt mit dem Soleil'schen Apparat und

*) Journ. f. Landwirthschaft. Bd. 26. S. 361. u. 401. Bd. 27. S. 145.

ist die Drehung in Procenten Traubenzucker abgelesen, so ist der Milchzuckergehalt, wenn p die abgelesenen Procente Traubenzucker bezeichnet und + 53.1° die spec. Drehung des Traubenzuckers für Natriumlicht ist,

$$= p \cdot \frac{53,1}{52,53^0}.$$

Da die Farbendispersion bei der Circularpolarisation durch Traubenzucker und Milchzucker nicht bemerkbar verschieden ist, gilt der für Natriumlicht gefundene Quotient auch für weisses Licht.

2) Die Bestimmung des Milchzuckergehaltes in der Milch durch Fehling'sche Lösung

kann nur ausgeführt werden nach Entfernung der Albuminstoffe und der Fette. Am geeignetsten für diesen Zweck ist die in § 302 beschriebene Methode. Die Spuren von Eiweissstoffen, welche nach Fällung mit Essigsäure, CO_2 und Kochen noch gelöst bleiben, beeinträchtigen die Genauigkeit der Titrirung durchaus nicht.

Untersuchung der Secrete der Talgdrüsen in der Haut, der Vernix caseosa, des Wollschweisses der Schafe, des Smegma, des Ohrenschmalzes, des Inhaltes der Balggeschwülste und Dermoidcysten.

310. Es schliessen sich die fetthaltigen Secrete der Hautdrüsen in manchen Hinsichten an die Milch an; in mehreren derselben ist Caseïn und Albumin gefunden, Zucker dagegen in keinem. Sehr eigenthümlich sind ihnen Aetherarten vom Cholesterin, Isocholesterin, Cetylalkohol (vergl. oben §§ 75, 152 u. 153) und vielleicht Homologen derselben. Die Untersuchungen von Schultze*) über den Wollschweiss der Schafe, von de Jonge**) über das Secret der Bürzeldrüse der Vögel sind für die Gesichtspunkte massgebend, nach denen die Untersuchung der Bestandtheile des Aetherauszuges dieser Secrete einzuleiten ist. Der Befund von Sotnitschewski***) eines Alkohols von hohem Moleculargewicht im Aetherauszuge des Inhalts einer Dermoidcyste beweist, dass auch hier auf diese Stoffe zu achten ist. Die reichlich im Ohrenschmalz gefundenen Seifen bedürfen noch schärferer Scheidung und Analyse. Die Untersuchung der Eiweissstoffe auf Caseïn, Albu-

*) Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. 6. S. 251 u. Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 25. S. 159.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 225.

***) Ebendaselbst. Bd. 4. S. 345.

min u. s. w. geschieht in den mit Wasser stark verdünnten Secreten nach den für die Milch gegebenen Methoden. Leucin und Tyrosin, in Atherombälgen gefunden, sind durch heisses Wasser zu extrahiren nach Fällung mit basischem Bleiacetat und Entbleien des Filtrats durch die oben §§ 116 u. 148 angegebenen Methoden und Proben zu isoliren und nachzuweisen.

Untersuchung des Sperma und der Testikel.

311. Zur Untersuchung des menschlichen und thierischen Samens geben die Arbeiten von F. Miescher*) die beste Anleitung. Weder durch Decantiren noch durch Filtriren auch mit der Wasserluftpumpe gelingt es, die Spermatozoen von der Flüssigkeit zu trennen, wenn nicht ein paar Tropfen Essigsäure zugesetzt sind. Das Verhalten gegen Wasser und Salzlösungen zeigt auffallende Verschiedenheiten des Sperma verschiedener Thierspecies. Die Stoffe, welche in den Spermatozoen stets vorhanden zu sein scheinen, sind Nuclein, Albuminstoffe, Cholesterin, Lecithin und anorganische Salze. Ueber die Gewinnung, Eigenschaften und Vorkommen des Nuclein vergl. § 194.

Für die Untersuchung der Zusammensetzung der Hoden geben die Arbeiten von Treskin**) und Sertoli***) bereits einige bestimmte Anhaltspunkte.

Untersuchung des Eiters.

312. Obwohl der Eiter meist eine ziemlich breiige Consistenz hat, lässt er sich doch gewöhnlich durch Filtration, die freilich sehr langsam erfolgt, in ein klares gelbliches Serum und die auf dem Filter bleibenden Eiterkörperchen trennen. In dem Eiterserum findet sich neben Serumalbumin ein durch ein wenig Essigsäure und viel Wasser, besser durch Magnesiumsulfat fällbarer Albuminstoff, der sich gegen sehr verdünnte Salzsäure und gegen Chlornatriumlösung u. s. w. wie Serumglobulin verhält. Das Serum enthält auch etwas Pepton.

In den Extractivstoffen des Eiters sind Leucin, Harnstoff, Zucker aufgefunden. Die Untersuchung des Eiterserum wird in jeder Hinsicht wie die einer serösen Flüssigkeit ausgeführt. Hinsichtlich der Untersuchung auf den häufig vorkommenden blauen Farbstoff des Eiters,

---

*) Verhandl d. naturh Gesellsch in Basel Bd. 7. Heft 1. S. 138. 1874.

**) Arch f. d. ges. Physiol. Bd. 5. S. 122

***) Gazzetta med veterinar. Milano 1872. Gen. e Febr.

die Chlorrodinsäure, welche hier und da im Eiter gefunden sind, ist in der dritten Abtheilung bereits das Wichtigere angegeben (vergl. S. 256).

Die Eiterkörperchen können wie die Blutkörperchen durch verdünnte Salzlösungen isolirt werden, aber nicht jede Salzlösung ist hierzu geeignet; Chlornatriumlösung verwandelt sie in eine zähschleimige Masse, während verdünnte Lösungen von schwefelsaurem Natron oder von salpetersaurem Baryt sie nicht zu verändern scheinen. Sie senken sich in den letzteren Lösungen gut und können damit gewaschen werden. Hinsichtlich der Analyse der Eiterkörperchen ist besonders auf die Arbeiten von F. Miescher*) und Kossel**) zu verweisen, hauptsächlich in Betreff der Kerne der Eiterkörperchen, in denen Miescher zuerst Nuclein und Sulfonuclein (vergl. § 194) nachgewiesen hat. Ausserdem sind in den Eiterkörperchen gefunden Albuminstoffe, Cholesterin, Lecithin, Cerebrin, Fette und anorganische Salze***). Von Hofmeister†) wurde viel Pepton aus Eiterkörperchen erhalten, Salomon fand darin Glycogen.

Die Isolirung der Kerne gelingt durch Behandlung der Eiterzellen mit sehr verdünnter Salzsäure und nachheriges Schütteln der in Wasser suspendirten Reste mit Aether, oder besser durch wiederholtes Ausziehen der Eiterzellen mit Aether und mit heissem Alkohol, nachherige längere Digestion mit gut verdauendem Magensaft, Auswaschen des Restes mit Wasser. Von den ungelöst bleibenden Kernsubstanzen wird durch verdünnte Sodalösung oder sehr schwache Natronlauge Nuclein und Sulfonuclein gelöst, während ein wahrscheinlich den Hornsubstanzen verwandter Stoff zurückbleibt, doch bietet die Trennung dieser beiden Substanzen von einander noch Schwierigkeit.

Untersuchung der Flüssigkeiten des Hühnereies.

313. Den Inhalt des Hühnereies kann man mechanisch ziemlich vollkommen in Eiereiweiss und Dotter trennen. Das durchsichtige gelblich gefärbte gallertige Hühnereiweiss lässt sich, wenn man es durch ein Tuch gepresst hat, unverdünnt gut filtriren und das Filtrat

---

*) Verhandl. d. naturh. Gesellsch in Basel Bd. 7. S. 138. F Miescher, Med chem. Untersuchungen, herausgeg. von Hoppe-Seyler Tübingen 1870 Heft 4. Seite 441.

**) Zeitschr. f. physiol Chem. Bd. 5. S. 152 u. 267 u. Bd 7. S 7.

***) Hoppe-Seyler, Med. chem. Unters. Berlin 1870. Heft 4. S. 486.

†) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 274.

wird durch Zusatz von Wasser nicht, durch Zusatz von viel Wasser und wenig Salzsäure oder Essigsäure stark getrübt; durch Schütteln mit Aether entsteht reichlicher weisser Niederschlag. In den §§ 172 und 174 sind bereits die Gründe entwickelt, welche das Eieralbumin als einen von den anderen Albuminstoffen verschiedenen Körper erscheinen lassen. Das Eiereiweiss hat eine deutlich alkalische Reaction, steht es an der Luft in dünnen Schichten oder filtrirt man es durch Papier, so bräunt es sich, indem wahrscheinlich die geringe Menge Zucker, die es enthält, zum Theil zersetzt wird; filtrirt man Eieralbumin in einer Kohlensäure- oder Leuchtgasatmosphäre, so bleibt es schwach gelblich gefärbt. Der Zuckergehalt lässt sich im Eiereiweiss wie in einer serösen Flüssigkeit untersuchen. Der Farbstoff, welcher dem Hühnereiweiss die gelbe Farbe verleiht, ist nach den Spectralerscheinungen Lutein, der Eiweissstoff, welcher durch Wasser und Säure gefällt wird, löst sich leicht in Chlornatriumlösung.

Leitet man einen Strom Kohlensäure durch Eiereiweiss, so bilden sich einzelne Fasern und Häutchen, die jedoch der Menge nach unbedeutend bleiben.

Die Dottermasse in einer Flasche mit Aether geschüttelt giebt an diesen ihren Gehalt an Fett und gelbem Farbstoff ab, der farblose Rückstand mit einer Mischung von 1 Volumen concentrirter Kochsalzlösung und 2 Volumina Wasser behandelt und aufs Filter gebracht, lässt eine opalescirende Flüssigkeit filtriren, die in viel Wasser getropft einen weissen reichlichen Niederschlag giebt; dieser Niederschlag besteht aus Vitellin, viel Nuclein*) und Lecithin.

Das durch Aether aus dem Dotter ausziehbare gelbe Fett enthält viel Cholesterin, Lecithin, Lutein und im Uebrigen die gewöhnlichen Fette Olein, Palmitin. Die sonst angegebenen Bestandtheile: Glycerinphosphorsäure, Cerebrinsäure, sind Zersetzungsproducte des Lecithin.

Die Reaction der Dotterflüssigkeit ist stets alkalisch wie die des Eiweiss, die Ausfällung der Eiweissstoffe gelingt daher erst nach Neutralisation mit Essigsäure oder Kohlensäure vollständig durch Wasser.

Von Stoffen, welche nicht in Aether, aber in Alkohol löslich sind, ist im Dotter nur Zucker mit Sicherheit aufgefunden. Er wird wie in einer serösen Flüssigkeit nachgewiesen (vergl. S. 417). Das

---

*) F. Miescher, Med. chem. Untersuchungen, herausgeg. von Hoppe-Seyler. Berlin. Heft 4. S. 502.

behauptete Vorkommen von Cerebrin, Glycogen, Amylum im Hühnerei ist wohl sehr zweifelhaft.

Die Uterinmilch von Wiederkäuern ist noch wenig untersucht. Gamgee*) fand darin 6—10 pCt. gewöhnliches Albumin, 1 pCt. Fett, 0,4—0,8 pCt. Asche. Diese Flüssigkeit wäre wie eine seröse Flüssigkeit zu untersuchen. Sie zersetzt sich leicht und verwandelt dann ihre alkalische Reaction in saure.

Untersuchung des Darminhaltes und der Fäces.

314. Das Gemenge von Speisen und Secreten des Darmcanals, welches als Speisebrei im Dünndarm eine dünnbreiige bis flüssige Consistenz besitzt und im Wesentlichen die unzersetzten Bestandtheile der Secrete, emulsionirtes Fett, Zucker, Peptone und unverdaute Albuminstoffe und andere Theile der Speisen enthält, soll im Verlaufe durch den Dünndarm noch ein Secret der kleinen Drüschen der Dünndarmschleimhaut erhalten, welches Darmsaft benannt, aber von Niemand in reinem Zustande gewonnen ist. Die Versuche, dieses Secret durch Abschnürung mittelst Streichen entleerter Darmschlingen zu erhalten, haben meist pathologische Flüssigkeiten, Transsudate, erzeugt, deren Untersuchung nur insofern etwas Besonderes ergeben hat, als es sich zeigte, dass sie zum Theil noch Eiweiss zu verändern oder zu verdauen im Stande waren; bis man das Statthaben der Secretion der Darmschleimhaut wirklich nachgewiesen hat, müssen alle derartigen Versuche ohne sichere Ergebnisse bleiben. Die Reaction des Speisebreies zeigt die grösste Verschiedenheit, oft ist sie im Innern des Darmes sauer, an den Wandungen alkalisch, zuweilen sauer vom Magen bis zum After, meist im unteren Theil des Dünndarms alkalisch, im oberen sauer.

Im Dickdarm wird die Consistenz der Massen durch Resorption der wässerigen Lösungen aus denselben fester, die Reaction im normalen Zustande sauer, die Albuminstoffe, Zucker, emulsionirte Fette verschwinden aus dem Dickdarminhalt beim Hinabrücken, es verlassen in den Fäces die unverdaulichen sehnigen Reste des genossenen Fleisches und Knochenmehls bei Fleischfressern, die Cellulose und Harze der Nahrung bei Pflanzenfressern gemengt mit Schleim, abgestossenem Epithel, Gallenfarbstoffen, Cholesterin, Resten der Gallensäuren, Kalkseifen, freien fetten Säuren, phosphorsauren und schwefelsauren Erden den Darmcanal; die braune Färbung, welche normale

*) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1864. S. 150.

Fäcalstoffe gewöhnlich zeigen, rührt im Wesentlichen von Hydrobilirubin her (vergl. § 166).

Das Meconium enthält vielleicht mit etwas Beimengung von Vernix caseosa Gallenreste, Schleim und Epithel des Darmcanals. Biliverdin, Cholesterin und Spuren von Gallensäuren können durch Alkohol, viel Bilirubin mit Chloroform daraus extrahirt werden. Dampft man das Alkoholextract mit kohlensaurem Natron zur Trockne ein und zieht den Rückstand zunächst mit Aether, dann mit Alkohol aus, so erhält man beim Verdunsten des Aetherauszuges Cholesterin in strahligen, beim Umkrystallisiren aus heissem Alkohol in blätterigen Krystallen. Der Alkoholauszug, durch Verdunsten von Alkohol befreit, giebt alle für die Gallensäure charakteristischen Reactionen (vergl. § 155). Producte der Fäulniss fehlen im Meconium ganz.

Die normale Färbung der Fäces von Säuglingen ist eine hellbraune, durch Hydrobilirubin bedingt, häufig geht diese Färbung schon bei geringen Digestionsstörungen in Grün über, die Fäses enthalten dann Biliverdin.

Ausser der häufigen Beimengung von Blut oder Eiter finden sich in Krankheiten oft folgende Stoffe als pathologische Beimengungen: Albumin, Harnstoff, Hämatin, eine bedeutende Vermehrung erfahren häufig pathologisch die löslichen Salze, besonders Chlornatrium, Gallenfarbstoff, der unverändert in den normalen Fäcalstoffen der erwachsenen Menschen nicht vorhanden ist, aber bei allen Diarrhöen sich reichlich in den Dejectionen findet, wenn sie nicht excessiv werden oder wenn nicht die Gallenausscheidung stockt wie in der Cholera, endlich Gallensäuren, die auch nur bei Diarrhöen reichlich in die Fäces gelangen. Alloxan glaubte Liebig einmal in den Excrementen pathologisch gefunden zu haben. Hämatin ist ein häufiger Bestandtheil der Fäces, stammt bei gesundem Darme aus der Nahrung (Blut des Fleisches), tritt aber auch stets in den Fäces auf, wenn eine Blutung in irgend einer Stelle des Darmes, mit Ausnahme des unteren Theiles vom Dickdarm, stattfand und die Functionen des Darmes nicht völlig gestört sind, wie bei der Cholera, wo die Blutkörperchen in den Dejectionen unverändert erscheinen

315. Einen sehr bedeutenden Theil der normalen Fäces von Menschen und Fleischfressern scheinen Mucin und zerfallene Epithelzellen des Darmcanals auszumachen. Eine genügende Untersuchung ist hierauf noch nicht gerichtet. Die Angaben über Eiweissgehalt in den Fäces, welche sich regelmässig in Stoffwechselarbeiten finden, sind

hierher zu beziehn sowie auf unverdaute Reste anderer Körper der Nahrung; Eiweissstoffe fehlen in normalen Fäces fast immer vollständig (bei sehr reichlicher Einnahme von Milch, Käse etc. kommen sehr selten Reste in den Fäces vor). Um das Mucin zu bestimmen, kann man eine gewogene Menge der Fäces mit Wasser zur schleimig flüssigen Masse zertheilen, das gleiche Volumen Kalkwasser hinzufügen, das Volumen der Mischung messen, auf grosses Faltenfilter giessen, den nach 1—2 Stunden filtrirten Theil der Flüssigkeit messen, dann in ihm das Mucin mit Essigsäure fällen, auf gewogenes Filter bringen, mit essigsäurehaltigem Wasser auswaschen, trocknen, wägen und den Mucingehalt der ganzen Masse der Fäces berechnen.

Zur Untersuchung auf Gallensäuren werden die Fäces mit Alkohol extrahirt und das filtrirte Extract nach Abdestilliren der grössten Quantität des Alkohol erst mit Salzsäure gut angesäuert, dann mit Barytwasser stark alkalisch gemacht, der Ueberschuss des Baryt durch einen Strom CO_2 ausgefällt, zum Kochen erhitzt, heiss filtrirt, der Rückstand mehrmals mit Wasser ausgekocht und filtrirt. Die Filtrate auf kleines Volumen eingedampft, geben beim Erkalten Niederschlag von cholalsaurem Baryt, während glycocholsaurer und etwa vorhandener taurocholsaurer Baryt in Lösung bleiben. Oelsaurer, palmitin- und stearinsaurer Baryt sind in Wasser unlöslich, bleiben sonach bei der Wasserextraction im Niederschlage. Hinsichtlich der weitern Darstellung, Krystallisation und Nachweis der Gallensäuren durch Pettenkofer's Reaction, Circularpolarisation u. s. w. vergl. oben §§ 154, 155, 157, 158.

Urobilin kann durch Alkohol und einige Tropfen Schwefelsäure aus den Fäces extrahirt werden. Das Filtrat mit gleichem Volumen Wasser gemischt, wird mit Chloroform ausgeschüttelt. Die spectroskopische Prüfung der Chloroformlösung und die grüne Fluorescenz nach Zusatz von ein wenig Chlorzink und überschüssigem Ammoniak entscheidet über die Anwesenheit von Urobilin, wenn nicht die Anwesenheit von Hämatin oder Chlorophyllan oder andern Farbstoffen die Untersuchung vereiteln. Méhu*) hat Urobilin aus dem Wasserauszug der Fäces durch Ammoniumsulfat und Schwefelsäure (2 Grm. im Liter) ausgefällt.

Die Untersuchung der Fäces auf eine nicht geringe Anzahl verschiedener Stoffe, die in ihnen oft enthalten sind, lässt sich an einer

---

*) Journ. de pharm. et de chim. Août 1878.

und derselben nicht zu kleinen Portion der Fäces ausführen und zwar kommen hier in Betracht: Indol, Skatol, Phenole, fette Säuren, Fette, Cholesterin, Chlorophyllan, Glucoside, die in Alkohol löslich sind, Amylum, Gummi, Cellulose.

Die Fäces werden mit Wasser zum dünnen Brei gemischt und der dritte Theil des Volumen abdestillirt. Das Destillat enthält neben freien fetten Säuren Phenole, Indol, Skatol. Der Rückstand wird etwas eingedampft, nach dem Erkalten mit Schwefelsäure stark angesäuert und erst mit Alkohol, dann mit Aether gut extrahirt und die Extracte abfiltrirt. Diese Extracte enthalten: fette Säuren, Fette, Cholesterin, Gallensäuren, Glucoside und Chlorophyllan, wenn diese in den Fäces enthalten sind. Der Rückstand kann enthalten: Keratin, Elastin, Nuclein, Cellulose, Amylum, Gummiarten.

Das erhaltene Destillat wird mit Natriumcarbonat übersättigt wieder der Destillation unterworfen, Indol, Skatol, Phenole gehen über, die fetten Säuren bleiben als Natriumverbindungen zurück. Das Destillat wird mit Aetzkali deutlich alkalisch gemacht und abermals destillirt, im Destillat finden sich Indol, Skatol. Die zurückgebliebenen Phenole werden nach Ansäuern des Rückstandes mit Schwefelsäure abdestillirt und im Destillate nach § 129, Indol und Skatol nach §§ 131 und 132, die fetten Säuren nach Zusatz von Schwefelsäure abdestillirt, im Destillate nach § 71 getrennt und nachgewiesen.

Die oben erhaltenen Alkohol- und Aetherauszüge werden mit Natriumcarbonat übersättigt, Alkohol und Aether abdestillirt, der Rückstand in viel Wasser zertheilt und mit Aether ausgeschüttelt, die ätherische Lösung im Scheidetrichter getrennt. Die Aetherlösung enthält die Fette und das Cholesterin. Nach Abdestilliren des Aethers wird der Rückstand mit alkoholischer Kalilauge verseift und nach §§ 84 und 152 (am Ende) Cholesterin und fette Säuren getrennt.

Die alkalische wässrige Lösung, von welcher der Aether abgegossen war, wird nach Verdunsten des Aetherrestes mit Schwefelsäure stark angesäuert und die Hälfte der Flüssigkeit abdestillirt. In das Destillat können noch fette Säuren übergegangen sein, welche nach § 71 nachzuweisen sind. Der Rückstand wird neben Gallensäuren Oelsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure enthalten können, die man in der Kälte erstarren lässt, abfiltrirt und nach § 72 untersucht (Trennung von Gallensäuren wie oben angegeben mit Baryt). In der wässrigen Lösung kann man mit Trommer's Probe auf Zucker untersuchen, wenn man auf in Alkohol lösliche Glucoside Rücksicht zu nehmen hat.

Die in Alkohol und Aether nicht gelösten Stoffe werden mit Wasser ausgekocht und filtrirt. Im Filtrate wird mit Jod auf Amylum geprüft, durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, Uebersättigung nach dem Erkalten mit Natronlauge, Zusatz von etwas Kupfersulfat und Kochen auf Amylum, Dextrin, Gummi.

Von den in Wasser nicht löslichen Stoffen wird die Cellulose durch Erwärmen in verdünnter Natronlauge nicht gelöst, nach Wasserzusatz durch Asbest abfiltrirt, der Rückstand mit dem Asbest nach dem Trocknen fein pulverisirt, in nicht zu viel concentrirter Schwefelsäure durch Zusammenreiben in der Reibschale gelöst, die Lösung in die 20fache Quantität siedendes Wasser eingetropft, noch $^1/_4$ Stunde im Sieden erhalten, dann mit Trommer's Methode nach § 88 auf gebildete Maltose und Traubenzucker geprüft.

Auf Nuclein untersucht man besser in gesonderter Portion, nachdem man sie mit Alkohol, dann mit Aether unter Zusatz von Salzsäure extrahirt hat. Der in saurem Aether und Alkohol unlösliche Rückstand wird noch mit wässriger verdünnter Salzsäure sorgfältig extrahirt und mit salzsäurehaltigem Wasser ausgewaschen. Die ungelöst gebliebene Substanz wird mit Salpeter und Soda in der Platinschale verbrannt und die wässrige Lösung der Schmelze auf Phosphorsäure untersucht. Die Gegenwart von Phosphorsäure beweist ihre Herkunft aus Nuclein, da alle Phosphate, selbst Eisenphosphat, in verdünnter Salzsäure gelöst werden. Möglichste Extraction durch sauren Aether und Alkohol muss der weitern Behandlung auch vorausgehen, um das eisenhaltige Hämatin zu entfernen, dessen bei der Veraschung zurückbleibendes Eisen Zweifel an genügender Extraction der anorganischen Salze erregen kann. Vergl. hinsichtlich des Nachweis des Nuclein § 194.

Hämatin geht in die sauren Aether- und Alkoholauszüge über und wird in einer Portion derselben spektroskopisch erkannt. Bei Anwesenheit anderer Farbstoffe geben die Bildung von Hämochromogen in alkalischer Lösung mit ein wenig Schwefelammonium, die sehr schwierige Zerstörung beim Schmelzen mit Aetzkali und beim Kochen der schwach alkalischen Lösung mit Quecksilberoxyd sowie der hohe Eisengehalt gute Erkennungsmittel.

Chlorophyllan geht gleichfalls in die Alkohol- und Aetherlösung grösstentheils über und wird, wie oben geschildert ist, nachgewiesen.

Auf Albumin untersucht man Fäces durch Ansäuern mit Essig-

säure (Zusatz von Wasser wenn nöthig), Filtration und Prüfung mit Ferrocyankalium, auf Pepton durch Biuretreaction.

Die Untersuchung auf Harnstoff geschieht nach der S. 140 ausführlich beschriebenen Darstellungsmethode.

Lecithin kommt in normalen Fäces nicht vor. In Krankheiten schon in dünnen Dejectionen bei Darmcatarrh kann es auftreten. Es wird mit Alkohol extrahirt, der Alkoholauszug verdampft, der Rückstand mit Aether ausgezogen und das Aetherextract wie dasjenige einer serösen Flüssigkeit auf Lecithin geprüft (vergl. § 263 am Ende).

Zur Untersuchung der anorganischen Stoffe ist eine Trennung 1) der in Alkohol löslichen Stoffe, 2) der in verdünnter Essigsäure, 3) der in Salzsäure löslichen Bestandtheile von den in beiden unlöslichen Körpern vor der Veraschung erforderlich, wenn man eine genügende Kenntniss der wirklich vorhandenen anorganischen Säuren und Metalle erlangen will. Verascht man die Fäces ohne vorherige Scheidung in dieser Weise, so treibt die Phosphorsäure der sehr häufig, wenn nicht fast immer vorhandenen Nucleine andere Säuren aus ihren Metallverbindungen aus, ebenso geschieht es durch die häufig reichlich in den Fäces enthaltene Kieselsäure, endlich wird beim Verbrennen der schwefelhaltigen Stoffe (Mucin, Nuclein, Keratin) bei Gegenwart von Carbonaten Sulfat gebildet. Eisenoxyd in der Asche des Alkoholauszuges ist als dem Hämatin zugehörig, Eisenoxyd in der Asche des salzsauren Auszuges erhalten ist als Phosphat resp. als Oxyd in Rechnung zu stellen.

Bei Stoffwechseluntersuchungen ist es allgemein üblich, die mit Aether extrahirten Stoffe als Fett zu bezeichnen, den Stickstoffgehalt des Trockenrückstandes als dem Eiweiss zugehörig, das Product directer Veraschung als anorganische Bestandtheile der Fäces in Rechnung zu stellen. Das eine ist so unrichtig wie das andere und die ganze bisherige Behandlung der Fäces in Stoffwechselversuchen unzulässig; sie führt zu ganz unbrauchbaren Werthen.

Ueber das Excretin und die Excretolinsäure Marcet's ist S. 315 bereits genügend gehandelt. Sowohl bei Menschen als auch bei Pflanzenfressern finden sich häufig Incrustationen von Speiseresten mit anorganischen Salzen, Concretionen von Haaren, harzigen Massen und Fasern der genossenen Stengel und Blätter und kleinere oder grössere Darmsteine, bei Pferden bis über 10 Pfund von Gewicht. Diese Darmsteine und Incrustationen bestehen fast ausschliesslich aus phosphorsaurer Magnesia $P_2O_8Mg_3$ oder phorphorsaurer Magnesia-Ammoniak $PO_4MgNH_4 + 6H_2O$; an menschlichen Darmsteinen sieht man

zuweilen*) grosse wohl ausgebildete Krystalle des letzteren Salzes. Die aus phosphorsaurer Magnesia gebildeten Darmsteine von Pferden enthalten nur Spuren von Kalkphosphat. Man untersucht die Darmsteine und Incrustationen wie die Harnsteine (vergl. §§ 253—255); natürlich ist die Prüfung auf Harnsäure, Cystin, Xanthin u. s. w. überflüssig.

Abscheidungen von blauen Vivianitkörnchen im Darminhalt von Leichen ist zuweilen beobachtet.

Die Concremente, welche unter dem Namen echter Bezoare sehr selten aus dem Orient nach Europa gekommen sind und von denen angegeben wird, dass sie Darmsteine der Antilope Dorcas und Capra aegagrus seien, bestehen ganz aus Lithofellinsäure neben Spuren von grünem Farbstoff, wohl Gallenfarbstoff, und etwas Schleim. Sie sind olivenfarbig, concentrisch geschichtet, wachsglänzend auf dem Bruch, in heissem Alkohol leicht löslich; ihre Untersuchung siehe bei Lithofellinsäure § 156.

V. Untersuchung der Organe und Gewebe.

Knochen, Zahnsubstanzen und Verkalkungen.

Nachweis und Bestimmung der organischen Bestandtheile.

316. Da Knochen- und Zahnsubstanzen, sowie die Verkalkungen, die sich in verschiedenen Organen pathologisch bilden können, stets Phosphorsäure, Kohlensäure, Kalk und Magnesia, mit Ausnahme des Schmelzes auch stets leimgebendes Gewebe enthalten, wäre es überflüssig, mit Rücksicht auf diese Stoffe eine qualitative Untersuchung dieser Körper anzustellen. Zweifelt man jedoch, ob man es mit einer Verkalkung oder Verknöcherung zu thun hat, ist insbesondere das mikroskopische Kennzeichen der Knochen, die Knochenkörperchen, nicht deutlich nachzuweisen, so würde wenigstens die Untersuchung auf leimgebendes Gewebe nicht überflüssig sein.

Zur Untersuchung auf leimgebendes Gewebe in Knochen oder verkalkten Stücken von Organen reinigt man dieselben zunächst möglichst sorgfältig von den sie umgebenden Gewebstheilen, zerstösst ein Stück zu grobem Pulver, zieht dasselbe mit Alkohol und Aether

---

*) Ein schöner Fall von Virchow beschrieben und abgebildet in Virchow's Arch Bd 20. S 403 1860.

aus, um Fette zu entfernen, und giesst dann verdünnte Salzsäure auf. Man erkennt nach einiger Zeit am Ansehen der Masse leicht, ob die Kalksalze völlig ausgezogen sind, und wäscht dann mit vielen Portionen Wasser den Rückstand so lange aus, bis das Waschwasser keine saure Reaction mehr zeigt. Die auf diese Weise von Kalksalzen völlig befreite Substanz wird dann mit Wasser in einem Kolben einige Zeit im Kochen erhalten oder noch besser damit in ein Glasrohr eingeschmolzen und etwa 24 Stunden im Wasserbade bei 100 ^{0} oder im Oelbade bei 105—110 ^{0} digerirt. Man filtrirt dann kochend heiss die Lösung durch ein Faltenfilter, wäscht mit kochendem Wasser aus, concentrirt das Filtrat im Wasserbade und lässt einige Stunden kalt stehen. Enthielt die verkalkte Masse u. dgl. leimgebendes Gewebe, so wird das concentrirte Filtrat nach dem Erkalten zur steifen Gallert gestehen und die Gallert, in heissem Wasser gelöst, die in § 128 beschriebenen Reactionen des Glutins geben. Beimengung von Chondrin wird nach § 192 leicht zu erkennen sein.

Zur quantitativen Bestimmung des Gehaltes an leimgebendem Gewebe in Knochen u. s. w. verfährt man mit der gereinigten, insbesondere von Periost sorgfältig getrennten, zerstossenen und bei 110 ^{0} getrocknet gewogenen Masse in gleicher Weise, verdunstet dann das Leim enthaltende Filtrat zur Trockne, trocknet im Luftbade bei 110 ^{0} und wägt.

Die Bestimmung des Fettgehaltes besteht in einer einfachen Extraction einer getrocknet gewogenen Portion des Knochenpulvers mit Aether, Filtration, Auswaschen mit Aether, Verdunsten des Aetherauszugs, Trocknen des Fettrückstandes und Wägen desselben.

Die anorganischen Bestandtheile der Knochen, Zähne und Verkalkungen.

317. Ausser Phosphorsäure, Kohlensäure, Kalk und Magnesia finden sich in Knochen und Zähnen noch Spuren von Fluor und Chlor. Diese Stoffe erfordern eine kleine Abweichung von dem Gange der Analyse der Aschen, die sich im Uebrigen auf die Knochen ohne Weiteres anwenden lässt.

Knochenstücke oder Zahnsubstanz, welche auf ihre anorganischen Bestandtheile untersucht werden sollen, sind nach möglichster Reinigung zum Pulver zerstossen zunächst durch Waschen mit Wasser, dann mit Alkohol und Aether von löslichen Salzen und Fetten möglichst zu befreien.

1) Man behandelt dann einen Theil der Substanz mit verdünnter reiner Salpetersäure und erkennt am Aussehen des Knochenpulvers, ob völlige Lösung der Kalksalze stattgefunden hat, darauf filtrirt man ab, wäscht den Rückstand mit Wasser aus, und fällt im Filtrat das Chlor durch salpetersaures Silberoxyd. Die Quantität Chlor, die sich findet, kann nur unbedeutend sein; will man sie bestimmen, so erhitzt man die Flüssigkeit kurze Zeit auf dem Wasserbade, bis der Niederschlag sich gut abgesetzt hat, filtrirt durch ein kleines Filter, sammelt darauf den Niederschlag, wäscht mit Wasser aus, trocknet, glüht u. s. w., wie es im § 208 angegeben ist.

2) Ueber den Nachweis des Fluor ist im § 52 das Nöthige angegeben. Die organischen Substanzen sind aus den Knochen durch Veraschen zu entfernen, ehe mit Schwefelsäure im Platintiegel versetzt und auf Fluor geprüft wird.

3) Zur Ermittelung des Kohlensäuregehaltes der Knochen wird eine bei 110° getrocknete und gewogene Portion des Knochenpulvers u. dgl. in der Weise behandelt, wie es in § 216 für Aschen beschrieben ist. Es ist zweckmässig, etwa 5 Grm. oder noch mehr zu dieser Bestimmung zu verwenden. Man hat dabei nicht zu befürchten, dass die organische Substanz mit der verdünnten Salzsäure Kohlensäure entwickelt, während dagegen die Bestimmung der Kohlensäure in Knochen u. dgl. nach dem Veraschen derselben ein zu niedriges Resultat giebt*).

4) Zur Bestimmung des Gehaltes der Knochen an Phosphorsäure, Kalk, Magnesia, Eisenoxyd verascht man am Besten eine gewogene Portion, etwa 3—6 Grm. des gereinigten und getrockneten Knochenpulvers im Porcellantiegel, restituirt nach dem Erkalten die fortgegangene Kohlensäure durch Befeuchten mit kohlensaurem Ammoniak, trocknet und erhitzt wieder bis zum gelinden Glühen, lässt erkalten und wägt die ganze Asche, löst sie dann im Becherglase in verdünnter Salzsäure und filtrirt, wenn noch Kohle sich zeigen sollte, dieselbe durch ein gewogenes aschefreies Filter ab und wäscht mit Wasser gut aus. Die Kohle wird mit dem Filter getrocknet, gewogen und in der Berechnung von dem Gewichte der Knochenasche abgezogen. Die klare salzsaure Lösung macht man dann mit Aetzammoniak zunächst alkalisch und fügt dann wieder Essigsäure hinzu, so

---

*) Vergl. F. Wibel, Das Verhalten des Calciumphosphats zu Calciumcarbonat in höherer Temperatur. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 7. S. 220. 1874.

lange sich noch etwas vom Niederschlage löst. Ein etwa ungelöst bleibender Niederschlag von phosphorsaurem Eisenoxyd wird auf einem kleinen Filter gesammelt, ausgewaschen, getrocknet, geglüht, gewogen und als phosphorsaures Eisenoxyd berechnet. In der abfiltrirten Lösung wird dann durch oxalsaures Ammoniak der Kalk völlig ausgefällt, Flüssigkeit und Niederschlag auf dem Wasserbade einige Zeit digerirt, dann abfiltrirt, der Niederschlag auf dem Filter gesammelt, gewaschen, getrocknet, geglüht u. s. w., wie es in § 206 beschrieben ist. Das gesammelte Filtrat und Waschwasser wird dann zunächst auf ein kleines Volumen auf dem Wasserbade oder über kleiner Flamme abgedampft, mit Aetzammoniak sehr stark übersättigt, 24 Stunden kalt stehen gelassen, dann filtrirt, der Niederschlag auf dem Filter gesammelt, mit verdünntem Aetzammoniak gewaschen, getrocknet und in einer Platindrahtspirale oder im kleinen Porcellantiegel geglüht, gewogen (vergl. § 207).

Die von der phosphorsauren Magnesia-Ammoniak abfiltrirte Flüssigkeit enthält noch die Phosphorsäure, welche mit dem Kalk im Knochen verbunden war. Man fällt dieselbe nöthigenfalls nach nochmaligem Einengen der Flüssigkeit durch ammoniakalische Magnesialösung (schwefelsaure Magnesia, Chlorammonium, überschüssiges Aetzammoniak), lässt kalt 24 Stunden stehen, filtrirt und behandelt den Niederschlag wie den vorigen.

Man erhält sonach aus derselben Portion getrockneten Knochenpulvers die Gewichte 1) der ganzen anorganischen Bestandtheile, 2) des phosphorsauren Eisenoxyds, 3) das Gewicht des Kalkes als kohlensauren Kalk, 4) der pyrophosphorsauren Magnesia, 5) der Phosphorsäure des Kalkes als zweite Portion pyrophosphorsaurer Magnesia. Nach der Tabelle II im Anhang berechnet man aus diesen Werthen die Magnesia aus der vierten Wägung, die Phosphorsäure aus der vierten und fünften, den Kalk aus der dritten Wägung und erhält so den Gehalt der Knochen an phosphorsaurem Eisenoxyd, Kalk, Magnesia, Phosphorsäure.

Man berechnet nun gewöhnlich die anorganischen Salze der Knochen, Zähne u. s. w. in der Weise, dass, wenn alle Säuren und Basen für 100 Gewichtstheile Knochen berechnet sind, man zunächst annimmt, dass die Magnesia an Phosphorsäure entsprechend der Formel $P_2O_8Mg_3$ gebunden sei, so dass 1 Gewichtstheil Magnesia 2,1833 Gewichtstheilen phosphorsaurer Magnesia entspricht; die hier erforderliche Phosphorsäure wird von der in 100 Theilen Knochen gefundenen

subtrahirt und der Rest als $P_2O_8Ca_3$ berechnet, so dass 1 Gewichtstheil P_2O_5 2,1831 Gewichtstheilen $P_2O_8Ca_3$ entspricht. Zieht man den für die Berechnung nöthigen Kalk von dem in 100 Theilen Knochen gefundenen Kalkgewichte ab, so erhält man das Gewicht Kalk als Rest, welches an Chlor, Fluor und Kohlensäure gebunden war. Hat man nun den Gehalt der Knochen an Kohlensäure durch einen gesonderten Versuch bestimmt, so berechnet man die in 100 Gewichtstheilen Knochen gefundene Kohlensäure als kohlensauren Kalk CO_3Ca und ebenso den gefundenen Chlorgehalt als Chlorcalcium. 1 Gewichtstheil CO_2 entspricht 2,2727 Gewichtstheilen CO_3Ca und 1 Gewichtstheil Chlor entspricht 1,5634 Gewichtstheilen Cl_2Ca; der dann übrig bleibende Rest von Kalk wird als Fluorcalcium in Rechnung gestellt; 1 Gewichtstheil CaO entspricht 1,39286 Gewichtstheilen Fl_2Ca.

Frische gut gereinigte Knochen scheinen nie Eisen zu enthalten; dasselbe findet sich dagegen als Phosphat nicht selten in fossilen Zähnen, zuweilen sogar in erheblicher Quantität.

Wenn es an der erforderlichen Substanz mangelt, um die Bestimmung der Kohlensäure, des Chlors und der übrigen anorganischen Bestandtheile in gesonderten Portionen auszuführen, wie es beschrieben ist, so verfährt man am Zweckmässigsten in der Weise, dass man die Fluorcalciumberechnung ganz aufgiebt, auch die Kohlensäure aus dem Verluste berechnet, die gewogene Knochenpulverportion verascht, die Asche in Salpetersäure löst, durch salpetersaures Silberoxyd das Chlor fällt, das Chlorsilber in der oben angegebenen Weise behandelt, im Filtrate durch Salzsäure das Silber ausfällt, filtrirt und in der so erhaltenen Flüssigkeit Phosphorsäure, Kalk u. s. w. bestimmt.

Man kann auch in der Asche der Knochen im Fresenius-Will'schen Apparate erst mit Salpetersäure die Kohlensäure austreiben und durch den Gewichtsverlust des Apparates bestimmen*), in der salpetersauren Lösung dann noch Chlor und die anderen Aschenbestandtheile bestimmen.

Da der Chlorgehalt in den Zähnen und besonders in den Knochen ein sehr geringer ist, so wird man bei Knochenuntersuchungen diese Probe meist ganz unterlassen können.

Das Chlorcalcium ist an sich in Wasser leicht löslich, in dem Zahnschmelz zeigt sich jedoch ein geringer Gehalt an Chlorcalcium in gleicher Weise mit phosphorsaurem Kalke wie im Apatite und vielen anderen Mineralien verbunden.

Die im Wasser löslichen Substanzen der Knochen und Zähne haben so wenig Charakteristisches, dass es überflüssig wäre, für ihre Untersuchung Methoden anzugeben. In osteomalacischen Knochen hat C. Schmidt Milchsäure gefunden und durch diese bedingte saure Reaction der Knochenflüssigkeit. Zur Prüfung auf Milchsäure würde man die Knochen zerstossen, mit Wasser extrahiren und dann nach § 78 auf Milchsäure untersuchen müssen.

*) Siehe Fresenius, Anleitung zur quantitativen Analyse. 6. Aufl. S. 446.

Knochen, welche längere Zeit in der Erde gelegen, sind oft von Vivianit blau gefärbt; der Nachweis des Eisenoxyduls (vergl. § 45) ergiebt hierfür die Erkennung.

Untersuchung der Muskeln, drüsiger Organe, Leber, Niere, Lunge, Milz.

318. Die Zusammensetzung der Muskeln, Drüsen, Lunge, Milz u. s. w. bietet so viel Uebereinstimmendes, dass eine nicht geringe Zahl von Untersuchungsmethoden für alle diese Organe Anwendung finden kann und nur die Nervensubstanzen eine gesonderte Besprechung erheischen. Ueber die Fermente der Labdrüsen und des Pankreas ist schon oben in §§ 195, 196, 287 u. 288 das Erforderliche angegeben. Diastatisches Ferment findet sich in sehr zahlreichen Organen, wenn nach ihrer Zerkleinerung mit kaltem Wasser extrahirt und das Filtrat mit Stärkekleister kurze Zeit stehen gelassen wird. Man prüft dann mit Natronlauge und etwas Kupfervitriol im Sieden nach § 88. Sind Eiweissstoffe reichlich in Lösung, so hindern sie leicht die Ausscheidung von etwas Kupferoxydul.

Unter den Bestandtheilen der bezeichneten Organe sind in erster Linie verschiedene Albuminstoffe zu nennen; es kommen in Betracht: Serumalbumin, Myosin, Serumglobulin, Muskelalbumin (vergl. oben S. 272), Pepton. Von den Proteiden ist Oxyhämoglobin in der Substanz verschiedener Muskeln, Mucin in den Submaxillar- und Sublingualdrüsen enthalten. Nuclein findet sich in grösserer oder geringerer Quantität in allen Organen. Von Kohlehydraten finden sich Inosit, Glycogen und seine Spaltungsproducte Dextrin, Maltose, Traubenzucker. Eine in den Organen allgemein verbreitete Gruppe von Stoffen sind Lecithin, Fette, Seifen, Cholesterin. Kreatin, Kreatinin, Taurin, Harnsäure sind in vielen Organen gefunden, in anderen vermisst. Hypoxanthin, Xanthin, Guanin scheinen stets zu den Nucleinen in naher Beziehung zu stehen und werden bei der Zersetzung der meisten dieser eigenthümlichen Stoffe besonders reichlich erhalten. Fleischmilchsäure, ein wichtiger Bestandtheil der Muskeln, scheint auch in drüsigen Organen vorzukommen, doch fehlen genügende Untersuchungen. Leucin, Tyrosin, Hydroparacumarsäure, Indol, Skatol scheinen nur pathologisch oder nur in zweifelhaften Spuren in den Organen aufzutreten oder Producte der nach dem Absterben bereits erfolgenden Fäulniss zu sein.

Es ist in allen Fällen von Wichtigkeit, die zu untersuchenden Organe so frisch als möglich in Arbeit zu nehmen, aber sie auch so

gut als möglich von Fascien, Sehnen, Blutgefässen, Nerven u. s. w. durch schnelles Präpariren zu befreien. Die Entfernung des Blutes aus den Organen von menschlichen Leichen gelingt nicht. Ist der Tod durch Verbluten erfolgt, so sind die Verhältnisse für die Untersuchung der Organe am Günstigsten. Dasselbe ist der Fall mit exstirpirten Geschwülsten, Muskeln amputirter Theile. Leitet man durch in die Arterien eingebundene Canülen einen Strom verdünnter Chlornatriumlösung (5—10 Grm. NaCl auf 1 Liter Wasser) durch die noch nicht abgestorbenen Muskeln, Drüsen u. s. w., so kann man in günstigen Fällen die Blutkörperchen aus den Blutgefässen vollständig ausspülen, auch die Plasmabestandtheile werden entfernt, aber die verdünnte Salzlösung entführt nicht allein Bestandtheile des Organs selbst, sondern bewirkt, wenn das Leben noch fortbesteht, Veränderungen in den chemischen Vorgängen des normalen Organs. Es ist dieses Ausspülen des Blutes aus den Gefässen mit verdünnter Salzlösung nur in ganz speciellen Fällen und nicht für quantitative Untersuchungen zulässig oder zweckmässig.

Steht etwas Blut von dem Individuum, dessen Organe untersucht werden sollen, zur Verfügung, so kann durch Auswaschen eines gewogenen Theils vom zum Brei zerkleinerten gewogenen Organe mit Wasser und colorimetrische Vergleichung mit dem Blute, welches mit gemessenen Wassermengen verdünnt wird (vergl. oben § 269 und § 275), der Gehalt des Organs an Blut bestimmt und ausserdem nach ausgeführter Bestimmung der Bestandtheile des Blutes auch von den Blutbestandtheilen ermittelt werden, wie viel von jedem derselben (ausser dem Blutfarbstoff) im Organe zurückgeblieben ist. Auf diesem Wege ist z. B. der Gehalt von Hunde- und Kaninchenmuskeln an Serumalbumin bestimmt*).

Die Zerkleinerung der Organe durch Messer und Schere ist mühsam und zu zeitraubend. Das Zerreiben der grob zerstückelten Masse mit Glasstücken oder Sand gelingt ziemlich schnell und gut, es geht aber leicht der abgeriebene Kiesel- oder Glasstaub als Trübung durchs Filter, wenn wässrige Auszüge des Organbreies filtrirt werden. Das Zerreissen und Zerschneiden in der Fleischzerkleinerungsmaschine ist sehr schnell ausführbar, aber gleichmässiger, in beliebiger Feinheit und auch nicht langsam gelingt die Zerkleinerung mit schwerem Hackemesser auf einem Brett aus hartem Holze.

---

*) Demant, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. S. 384.

Auswahl und Aufeinanderfolge der Untersuchungsmethoden.

319. Zur Bestimmung des Wassergehaltes wird eine Portion von 5—10 Grm. des Organbreies gewogen, in einer Porcellanschale in dünner Schicht mit einem Spatel oder Glasstäbchen ausgebreitet, bei 50—70° zunächst im Luftbad oder Wasserbad getrocknet, dann auf 105—110° erhitzt erhalten, nach dem Erkalten über Schwefelsäure gewogen, wieder bei letzterer Temperatur getrocknet, gewogen und dies wiederholt, bis das Gewicht constant ist. Es ist nicht zweckmässig diesen Rückstand, wie es noch viel geschieht, fein zu pulverisiren und zur Bestimmung des Fettes u. s. w. zu verwenden, ebenso wenig ihn zu veraschen und die Aschenquantität zu bestimmen, weil getrocknete Massen sich schwer vollkommen mit Aether extrahiren lassen, und die beim Verbrennen der ganzen Masse durch Einwirkung der Phosphorsäure des Lecithin und Nuclein und Bildung von Schwefelsäure aus Eiweissstoffen, Keratin u. s. w., hervorgerufenen Veränderungen in der Zusammensetzung der anorganischen Bestandtheile sein können. In allen Fällen ist zur Darstellung der Aether-, Alkohol- und Wasserauszüge und zur Veraschung der einzelnen Extractrückstände aus einem gewogenen Theil des Organbreies, der nicht zu klein bemessen werden darf, der Gang besonders empfehlenswerth, welcher in § 263 für seröse Flüssigkeiten eingehend geschildert ist. Durch dieses Verfahren erhält man die Bestimmung des Gehaltes im Organ an Lecithin, Cholesterin, Fetten, einzelnen anorganischen Bestandtheilen (die Aschen des Alkohol- und Wasserauszugs sind zur Analyse zu vereinigen), wenn die Analyse der Aschen durchgeführt wird.

Zur Untersuchung der Albuminstoffe ist eine besondere Portion des Organbreies zu verwenden, eine andere Portion desselben zur Untersuchung auf Glycogen, wieder eine andere zur Aufsuchung und Bestimmung von Kreatin, Hypoxanthin, Xanthin nach Neubauer. Bestimmung des Zuckers und der Milchsäure kann mit der Untersuchung auf Glycogen aus derselben Portion geschehen. Für Nuclein und die bei seiner Zersetzung entstehenden Hypoxanthin, Xanthin, Guanin sind wieder gesonderte Portionen erforderlich, mit letzterer kann die Untersuchung auf Harnsäure zugleich ausgeführt werden. Die Untersuchung auf Harnstoff, Leucin, Tyrosin, Taurin, Hydroparacumarsäure, Pepton, Lecithin, Cholesterin, Fette kann mit einer Portion des Organbreies ausgeführt werden. Hinsicht-

lich der Albuminstoffe vergl. den folgenden Paragraphen, für die Darstellung von Glycogen aus Organen sind auf Seite 131 und 132, über die der Milchsäure auf Seite 104, über die des Harnstoffs auf Seite 140 die Vorschriften gegeben. Inosit kann man neben Kreatin sowie neben Milchsäure nach dem Verfahren von Boedeker (vergl. oben Seite 128) gewinnen. Zur Untersuchung flüchtiger fetter Säuren, bringt man den Organbrei in das 5—10fache Gewicht Wasser, säuert mit verdünnter Schwefelsäure an, filtrirt durch Leinwand, destillirt den Auszug und untersucht das Destillat nach § 71.

Untersuchung der Albuminstoffe in Muskeln und andern Organen.

320. Zur Untersuchung der verschiedenen Albuminstoffe wird die zum Brei zerkleinerte Masse successive mit Wasser, Salzlösung und sehr verdünnter Salzsäure oder sehr verdünnter Alkalilauge behandelt. Man trägt den Brei in die ungefähr doppelt so grosse Menge eiskalten Wassers ein, stösst und reibt das Gemenge in der Reibschale zusammen, lässt unter häufigem Umrühren einige Stunden bei sehr niedriger Temperatur stehen, filtrirt dann zuerst durch locker gewebte Leinwand, presst aus, filtrirt die Flüssigkeit durch Papier. Die rückständige Masse wird dann mit grösseren Wasserquantitäten mehrmals noch in gleicher Weise behandelt, die abfiltrirten wässrigen Lösungen aber nur dann mit dem ersten Filtrate vereinigt, wenn quantitative Bestimmung der einzelnen Albuminstoffe ausgeführt werden soll. Die ausgepresste Muskel- oder Drüsenmasse wird nun zur Extraction von Globulinen, besonders Myosin, mit einer Lösuug von Chlorammonium (120—150 Grm. mit Wasser gelöst und zu 1 Liter verdünnt) übergossen, zusammengerieben und geknetet, unter häufigem Umrühren einige Stunden stehen gelassen, dann abfiltrirt, ausgepresst, noch 2- oder 3mal in gleicher Weise mit neuen Portionen Chlorammoniumlösung behandelt, ausgepresst und nun durch Behandlung mit viel Wasser das Chlorammonium aus der rückständigen Organmasse möglichst entfernt. Dieselbe wird dann ausgepresst in Wasser gebracht, dem 4 CC. reine rauchende Salzsäure für 1 Liter Lösung zugesetzt sind, gut zusammengerieben, dann abfiltrirt und noch mehrmals mit neuen Portionen dieser ungefähr 1 p. M. HCl enthaltenden Lösung behandelt, so lange dieselbe noch mehr als Spuren von Eiweissstoff aufnimmt, der bei Neutralisation einer Probe mit Natriumcarbonat oder auf Zusatz von Ferrocyankalium zur sauren Lösung ausfällt. Mit Wasser wird dann die

ausgepresste Masse gewaschen und dann mit Aetzkalilösung von 1 bis 2 Grm. auf 1 Liter Wasser behandelt, zusammengerieben stehen gelassen, filtrirt, der Rückstand mit Wasser gewaschen, mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure im Wasser gewaschen. Der Rückstand kann von Eiweissstoffen kaum noch etwas enthalten als Fibrin aus dem Blute, welches in den Gefässen des Organes geronnen war, und amyloide Substanz in degenerirten Organen. Anhaltend mit Wasser gekocht verliert der ausgepresste Rückstand seinen Gehalt an Collagen, welches als Glutin in Lösung übergeht und nach genügender Concentration auf dem Wasserbade beim völligen Erkalten zur Gallert erstarrt. Die Sarkolemmschläuche, membranae propriae der Drüsenschläuche, elastischen Fasern und Keratin bleiben in ihrer mikroskopischen Structur kaum verändert zurück.

Bei dieser Behandlung, die stets bei sehr niedriger Temperatur auszuführen ist, werden erhalten 1) Kaltwasserauszug, 2) Chlorammoniumlösung, 3) Lösung in Salzsäure von 1 pr. M. und 4) Lösung in Kalilösung von 1—2 p. M. Werden Muskeln auf die beschriebene Weise behandelt, so kann man sehr häufig mit Chlorammoniumlösung behandeln, immer wird der letzte Auszug noch Globulinsubstanz enthalten. Das früher übliche Extrahiren des Organbreies mit NaCl-Lösung ist noch viel weniger günstig als das von Danilewski für das Myosin mit Recht empfohlene Chlorammonium (vergl. oben Seite 274*)). Die verdünnte Aetzkalilösung ist schnell zu filtriren und dann sofort mit Essigsäure sehr schwach anzusäuern.

Im ersten Kaltwasserauszuge können sich von Eiweissstoffen befinden: Serumalbumin, Serumglobulin, Muskelalbumin, Myosin, Mucin, Pepton. War das Organ noch bluthaltig, so enthält der Wasserauszug auch den Blutfarbstoff, an seiner Farbe sofort zu erkennen. Mucin wird in einer Probe durch Essigsäure nachgewiesen; es entsteht ein faserig flockiger, in überschüssiger Essigsäure unlöslicher, auf Zusatz von Chlornatriumlösung quellender und dann sich lösender Niederschlag. Eine andere Probe wird in einem Probirglas oder Kolben mit eingesetztem Thermometer langsam im Wasserbade erwärmt. Trübung und flockiger Niederschlag bei 45—48° zeigt die Anwesenheit von Muskelalbumin an. Das Coagulum wird abfiltrirt und das Filtrat im Probirglas oder Kolben langsam weiter erhitzt. Flockiger Niederschlag bei 55°, nachdem schon früher Trübung eingetreten, zeigt Myosin an.

*) Vergl. auch Danilewski, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7. S. 124.

Es wird abermals filtrirt und weiter erhitzt, Trübung in den 60er Graden und flockige Fällung bei 72—75° geben Serumalbumin und Serumglobulin an. Ist Blutfarbstoff zugegen, so giebt derselbe gleichfalls bei dieser Temperatur Coagula, scheidet sich aber erst beim Sieden vollständig aus.

Eine dritte Probe wird mit Magnesiumsulfat vollständig gesättigt, dann filtrirt, der Niederschlag mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung gewaschen, dann in nicht zu viel Wasser gelöst. Enthält der Niederschlag nur Myosin und Muskelalbumin, so wird beim vorsichtigen Erwärmen bei 55—56° alle Globulinsubstanz ausgefällt, ist dagegen auch Serumglobulin zugegen, so tritt über 60° von Neuem Trübung ein und flockige Fällung bei 73—75°.

Da Muskelalbumin durch Sättigung der Lösung mit Chlornatrium nicht gefällt wird, kann in einer Portion der Flüssigkeit durch dies Salz das Myosin vollständig gefällt werden, nach Filtration und Zusatz von Wasser durch Erwärmen auf 48° sicherer constatirt werden, ob Muskelalbumin zugegen ist oder die in der nicht mit NaCl gefällten Flüssigkeit erhaltene Trübung nur von Myosin bewirkt war.

Aus dem 2. Auszug des Organbreies mit Chlorammoniumlösung wird durch Sättigung mit NaCl (Einstellen eines Steinsalzprisma) die Globulinsubstanz gefällt, filtrirt, der Niederschlag mit etwas Wasser gelöst und durch vorsichtiges Erwärmen zunächst auf 55°, dann höher ermittelt, ob Myosin oder Serumglobulin oder beide zugegen sind.

3. Die Lösung in sehr verdünnter Salzsäure wird durch vorsichtige Neutralisation mit Natriumcarbonat gefällt, der Niederschlag gut mit Wasser gewaschen, reagirt neutral, wenn er aus Syntonin besteht, beharrlich sauer, wenn er Albuminat enthält. Albuminat als feuchter Niederschlag mit $CaCO_3$ in der Reibschale zusammengerieben löst Calcium auf, so dass die filtrirte Lösung mit Natriumcarbonat Niederschlag von Calciumcarbonat giebt.

4. Die Aetzkalilösung giebt beim Neutralisiren Niederschlag, wenn sie Acidalbumin enthält, Albuminat fällt erst beim Ansäuern nieder. Die weitere Unterscheidung wie in 3.

Die angegebenen Trennungen der einzelnen Eiweisstoffe in den Auszügen sind auch für annähernde quantitative Bestimmung brauchbar, nur sind die Globulinsubstanzen mit Chlorammoniumlösung so wenig als mit andern neutralen Salzlösungen quantitativ zu extrahiren, es bleibt im Rückstand ein Theil derselben zurück, der in den Auszug mit sehr verdünnter Salzsäure als Syntonin übergeht. Man kann

deshalb das Gewicht des in der sauren Lösung gefundenen Albuminstoffs zu den Globulinen fast in allen Fällen addiren.

Pepton sucht man im Kaltwasserauszug des Organsbreies nach dem ausführlich auf Seite 287 und 288 geschilderten Verfahren auf, bestimmt nach demselben auch seine Quantität.

Untersuchung auf Nucleine und ihre Zersetzungsproducte.

321. Darstellung des Nucleins*). Der Brei des zerkleinerten Organs wird zunächst schnell mit kaltem Wasser ausgezogen, so lange die Flüssigkeit Oxyhämoglobin aufnimmt, dann mit sehr verdünnter Salzsäure (4—8 CC. reine rauchende Salzsäure auf 1 Liter Wasser) extrahirt, mit Wasser ausgewaschen und ausgepresst. Der ausgepresste Rückstand wird bei kalter Temperatur mit sehr verdünnter Kali- oder Natronlauge (2 Grm. auf 1 Liter Wasser) zusammengerieben, schnell filtrirt und sofort in verdünnter Salzsäure das Filtrat aufgefangen, so dass es sogleich übersättigt wird. Das sich flockig abscheidende Nuclein wird abfiltrirt zunächst mit sehr verdünnter Salzsäure, dann mit Alkohol und etwas Aether gewaschen, alkoholfeucht mit der Luftpumpe über Schwefelsäure getrocknet. Diese Darstellung ist unsicher, indem sich stets ein grosser Theil des Nuclein zersetzt.

Bestimmung des Nuclein durch seine Phosphorsäure nach Kossel**).

Ungefähr 15 Grm. des Organbreies werden abgewogen, in geräumiger Reibschale mit ein wenig Gerbsäurelösung und ungefähr 10 CC. verdünnter Salzsäure (von ungefähr 5 pCt. HCl) übergossen und gut durchgeknetet. Der Brei wird dann durch kleines, mit verdünnter Salzsäure ausgespültes Filter filtrirt, mit viel verdünnter Salzsäure, dann mit siedendem Alkohol, zuletzt mit Aether extrahirt. Von den letzten Portionen des salzsauren, des ätherischen und des alkoholischen Extractes werden Proben eingedampft, mit Soda und Salpeter verascht; diese dürfen höchstens noch geringe Spuren von Phosphorsäure enthalten. Die extrahirte Organmasse wird ätherfeucht in eine geräumige Platinschale gebracht, und der Aether entzündet. Die Masse wird hierbei grösstentheils verkohlt. Der Rückstand mit Salpeter und Soda versetzt wird dann verbrannt, die Schmelze in Wasser gelöst, mit Salzsäure angesäuert, mit Ammoniak sehr stark übersättigt, mit am-

---

*) Med. chem. Untersuchungen, herausgegeben von Hoppe-Seyler S. 488.

**) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7. S. 9.

moniakalischer Magnesiamischung gefällt, nach 12—24stündigem Stehen der Niederschlag auf kleinem Filter gesammelt, getrocknet, geglüht und die kohlefreie pyrophosphorsaure Magnesia gewogen. Aus ihrem Gewichte ergiebt sich nach Tabelle II im Anhang die Quantität der im betreffenden Organe dem Nuclein zugehörigen Phosphorsäure.

Bestimmung der beim Kochen mit verdünnter Säure aus den Organen erhaltenen Hypoxanthin, Xanthin, Guanin und Harnsäure nach Kossel*).

50—500 Grm. vom Brei des zu untersuchenden Organs werden mit Wasser, dem für je 1 Liter 5—10 Grm. concentrirte Schwefelsäure zugesetzt ist, 3—4 Stunden im Dampfkochtopf gekocht. Die erkaltete Flüssigkeit wird filtrirt, der Filterrückstand mehrmals mit siedendem Wasser ausgezogen, die gesammten Filtrate vereinigt, zu ungefähr 300 CC. eingedampft, mit grossem Ueberschuss von Ammoniak versetzt und 24 Stunden bedeckt stehen gelassen. Die dann filtrirte Flüssigkeit wird mit Silbernitratlösung gefällt. Der abfiltrirte Niederschlag aber, welcher Harnsäure und Guanin enthalten kann, wird mit Salzsäure übergossen 2 Tage stehen gelassen, dann die das Guanin enthaltende Flüssigkeit abfiltrirt; wenn Harnsäure vorhanden ist, bleibt sie in gefärbten Krystallen zurück. Die Harnsäure wird mit Wasser gewaschen, getrocknet und gewogen, die salzsauren Filtrate auf sehr kleines Volumen eingedampft, mit überschüssigem Ammoniak versetzt und zu dem früheren mit Silbernitrat versetzten Filtrat hinzugefügt, mit Silbernitrat vollständig gefällt**). Der erhaltene Niederschlag, welcher die Silberverbindung von Hypoxanthin, Xanthin, Guanin enthalten kann, wird mit Salpetersäure von 1,1 spec. Gewicht (unter Zusatz von ein wenig Harnstoff, um Nitrirung von Guanin zu vermeiden) zum Sieden erhitzt, der nach dem Erkalten sich abscheidende krystallinische Niederschlag, welcher neben salpetersaurem Hypoxanthinsilber auch die entsprechende Guaninverbindung enthalten kann, auf gewogenem Filter gesammelt, mit Wasser gewaschen, getrocknet gewogen, dann in heissem Wasser zertheilt, mit SH_2 das Silber abgeschieden, filtrirt, etwas eingedampft, dann mit Ammoniak das Guanin ausgefällt, auf gewogenem Filter gesammelt, gewaschen, getrocknet, gewogen, aus

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 423. Die Methode ist von Kossel mit Rücksicht auf Harnsäure und Guanin später modificirt und erweitert.

**) Wenn die Silberniederschläge sich nicht gut abscheiden und trübe Filtrate liefern, ist es zweckmässig etwas Alkohol zuzusetzen.

der ammoniakalischen Lösung durch Silbernitrat das Hypoxanthin zur Controle gefällt, auf gewogenem Filter gesammelt, getrocknet und gewogen. Das in der starken Salpetersäure gelöst gebliebene salpetersaure Xanthinsilber wird mit überschüssigem Ammoniak gefällt und das Xanthinsilberoxyd auf gewogenem Filter gesammelt, getrocknet, gewogen.

Quantitative Bestimmung von Kreatin, Xanthin, Sarkin, Guanin in Organen nach Neubauer und Kossel.

322. Für die Gewinnung von Kreatin und Kreatinin aus Muskeln ist zuerst von Liebig*) ein Verfahren beschrieben, welches lange Zeit auch für Versuche quantitativer Bestimmung benutzt ist. Von Strecker**) wurde dann der Weg zur Abscheidung und Gewinnung des Sarkin angegeben. Scherer***) und Städeler†) wiesen diese Stoffe sowie Xanthin und Guanin auch in Drüsen nach und veränderten theilweise die Methode der Darstellung und Trennung der einzelnen Körper. Von Neubauer††) wurde dann ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Kreatin, Xanthin und Sarkin in Muskeln gegeben, welches im Uebrigen gute Resultate liefert, aber nur die wahrscheinlich präformirten Quantitäten von Sarkin und Xanthin in Betracht zieht, nicht die viel grösseren Mengen, welche, wie Kossel†††) später fand, erst beim Kochen der Organe mit Säure aus den Nucleinverbindungen abgespalten werden. Im Folgenden ist das Verfahren von Neubauer mit einigen wesentlichen, nicht allein das Guanin betreffenden Abänderungen beschrieben. Dasselbe ist auch für Leber, Lunge, Nieren, Milz u. s. w. anwendbar, doch wird es sich immer empfehlen, etwas grössere Quantitäten der Organe in Arbeit zu nehmen, wo sie zu Gebote stehen.

200—500 Grm. oder mehr vom Brei des zerkleinerten frischen Organs werden mit dem ungefähr gleichen Gewicht Wasser gründlich gemengt und im Wasserbade unter stetem Umrühren auf 55—60° erhitzt. Die Flüssigkeit wird dann colirt, der Rückstand mit der Hand in kleinen Portionen ausgepresst, wieder mit 60—80 CC. Wasser an-

---

*) J. v. Liebig, Chem. Untersuchungen über das Fleisch etc. Heidelberg 1847. Ann. Chem. Pharm. Bd. 62. S. 257.

**) Ann. Chem Pharm. Bd. 102. S. 204.

***) Ebendas. Bd. 107. S. 314. Bd. 112. S. 276.

†) Ebendas. Bd. 116. S. 102.

††) Zeitschr. f. anal. Chem. 1863. S. 26. u. 1867 S. 33.

†††) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 422.

gerührt und zum zweiten Male gründlich ausgepresst. Die vereinigten Flüssigkeiten werden dann über freiem Feuer unter Umrühren zur völligen Coagulation der Albuminstoffe erhitzt und nach dem Erkalten filtrirt. Das Filtrat wird mit Bleiessig gefällt, so lange ein Niederschlag entsteht, grosser Ueberschuss des Bleiessigs ist jedoch dabei zu vermeiden, dann filtrirt, das Filtrat durch SH_2 von Blei befreit und nach Abfiltriren des Bleiniederschlages die Flüssigkeit, ohne dass sie zum Sieden erhitzt wird, eingedampft bis auf 5—10 CC. Volumen. Man lässt die so concentrirte gelbliche, dünn syrupöse Flüssigkeit 2—3 Tage an einem kühlen Orte zur Krystallisation stehen. Die gebildeten Kreatinkrystalle sammelt man auf einem gewogenen Filter, wäscht zuerst mit 88 procentigem Alkohol aus, trocknet bei 100° und wägt das Filter mit dem entwässerten Kreatin. Die vom Kreatin abfiltrirte Mutterlauge mit der alkoholischen Waschflüssigkeit kann nun entweder 1) durch Abdampfen von Alkohol befreit, mit Wasser verdünnt, mit überschüssigem Ammoniak versetzt werden, um in derselben Weise zur Bestimmung von Harnsäure, Guanin, Hypoxanthin und Xanthin zu dienen, wie es am Ende des vorigen Paragraphen beschrieben ist, oder 2) sie kann nach Boedeker's Verfahren (vergl. oben S. 128) für die Darstellung des Inosit benutzt werden; sie kann 3) Verwendung finden zur Bestimmung oder Nachweis von Taurin, Kreatinin und von Milchsäure. Für diesen letztgenannten Zweck wird die Flüssigkeit mit etwas Bariumcarbonat versetzt, zur Trockne verdampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen, so lange derselbe noch etwas löst. Das milchsaure Salz löst sich auf, ebenso Kreatinin; Taurin bleibt dagegen ungelöst.

Aus der alkalischen Lösung wird nach Zusatz von ein wenig alkoholischer Chlorzinklösung beim Stehen 2 Tage lang das Kreatinin in Verbindung mit Chlorzink abgeschieden. Die abfiltrirte alkoholische Lösung wird zur Trockne im Wasserbade verdampft, der Rückstand mit mässig verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure versetzt, durch Ausschütteln mit mehreren Portionen Aether die Milchsäure aufgenommen und weiterhin behandelt nach dem S. 104 unten angegebenen Verfahren, schliesslich die freie Säure mit Wasser und Zinkcarbonat in das Zinksalz oder mit Calciumcarbonat in das Kalksalz verwandelt, gewogen, Krystallwassergehalt und Sättigungscapacität bestimmt.

Der das Taurin enthaltende, in Alkohol unlösliche Rückstand wird in wenig Wasser gelöst, durch langsames Verdunsten Krystallisation zu erhalten gesucht. Vielleicht wird durch Kochen mit Queck-

silberoxyd in wässriger Lösung am Besten eine Abscheidung erreicht (vergl. S. 178 oben). Der bedeutende Schwefelgehalt und entsprechende Schwefelsäurebildung beim Verbrennen mit Soda und Salpeter (vergl. oben S. 81) erleichtert die Auffindung selbst sehr kleiner Quantitäten von Taurin.

Trennung und Bestimmung von Glycogen, Dextrin, Maltose, Traubenzucker, Milchsäure.

323. Der Brei des frisch und schnell zerkleinerten Organs (am besten vor der Zerkleinerung gewogen) wird in siedendes Wasser eingetragen, kurze Zeit im Sieden erhalten, dann colirt, der Rückstand in der Reibschale zerrieben, in neue Quantität siedenden Wassers eingetragen, einige Minuten im Sieden erhalten und diese Procedur zum dritten Male wiederholt. Diese drei Flüssigkeitsportionen enthalten in allen Fällen die Hauptmenge des Glycogen und ganz das Dextrin, Maltose, Traubenzucker, Milchsäure, wenn diese alle überhaupt vorhanden sind. Zur vollständigen Extraction des Restes vom Glycogen aus den ungelösten Rückständen des Organs würden nach Böhm (vergl. S. 132 oben) die letzteren noch längere Zeit im Digestor mit Wasser zu erhitzen und das aus dieser Lösung nach dem angegebenen Verfahren isolirte Glycogen zur Hauptportion hinzuzurechnen sein. Die vereinigten ersten drei Flüssigkeitsportionen werden nach Zusatz von etwas Barium- oder Magnesiumcarbonat auf ein kleines Volumen (je nach der Quantität des in Arbeit genommenen Organtheils, ungefähr $^1/_{10}$ seines Volumen) auf dem Wasserbade concentrirt und mit der dreifachen Quantität absoluten Alkohols gefällt, der das Glycogen enthaltende Niederschlag nach gutem Absetzen abfiltrirt. Das Filtrat wird abermals auf sehr kleines Volumen auf dem Wasserbade eingedampft, zuletzt, um Bräunung zu verhindern, nicht über 70°. Die syrupöse Masse wird mit absolutem Alkohol gefällt, nach mehrstündigem Stehen die alkoholische Lösung vom Niederschlage, welcher Dextrin enthalten kann, abgegossen, der Alkohol abdestillirt, auf dem Wasserbade der Rest des Alkohols entfernt, Salzsäure und Aether hinzugefügt, die Milchsäure durch mehrere Portionen Aether ausgezogen und nach den Angaben auf S. 104 (vergl. auch Ende des vorigen Paragraphen) behandelt. Nachdem bei gewöhnlicher Temperatur der Aetherrest vom sauren ungelöst im Aether gebliebenen Syrup verdunstet ist, wird der Syrup in Wasser gelöst, gemessen und in zwei gleiche Hälften getheilt. Die eine derselben wird mit Natriumcarbonat neutralisirt

und Fehling'sche Lösung damit titrirt, wie mit einem diabetischen Harn, vergl. S. 395. Der andere Theil wird $^1/_4$ Stunde lang unter Ersatz des verdampfenden Wassers im Sieden erhalten, dann mit Natriumcarbonat neutralisirt, wieder auf das frühere Volumen gebracht und Fehling'sche Lösung damit titrirt. Die Menge der vorhandenen Maltose (vielleicht auch etwas Dextrin) ergiebt sich aus dem Unterschiede beider Titrirungen, insofern die Maltose, bei Einwirkung der Säure in der Siedetemperatur zu Traubenzucker umgewandelt, viel mehr Kupferoxyd reducirt, als so lange sie nicht diese Verwandlung erfahren hat (vergl. oben S. 124 und 133.)

Das durch Alkohol gefällte Glycogen wird in Wasser wieder gelöst, die Lösung mit Salzsäure und Jodquecksilberjodkalium gefällt und nach Brücke und Böhm weiterhin die Isolirung und Bestimmung durch Wägung des auf gewogenem Filter mit absolutem Alkohol entwässerten und schnell getrockneten Glycogen ausgeführt nach den Angaben S. 132.

Trennung, Nachweis und Bestimmung von Harnstoff, Leucin, Tyrosin.

324. Das zum feinen Brei zerhackte, vorher gewogene Organ wird in das mindestens dreifache Gewicht absoluten Alkohol gebracht gut umgerührt, auf dem Wasserbade bis zum beginnenden Sieden des Alkohols unter häufigem Umrühren erhitzt, dann einige Stunden zum Erkalten stehen gelassen, die Lösung abfiltrirt uud der Rückstand mit mehreren Portionen 80 procentigen Alkohol ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate werden destillirt, bis der Rückstand ungefähr das Volumen des verwendeten Organbreies hat, dann wird derselbe in eine hochwandige Schale ausgegossen und bei mässiger Temperatur (nicht über 60°) auf dem Wasserbade verdunstet, so dass der Alkohol fast vollständig entweicht. Es wird nun mit Essigsäure angesäuert, mit Chloroform Lecithin, Fette, Cholesterin und freie fette Säuren ausgeschüttelt, die von der Chloroformlösung im Scheidetrichter getrennte wässrige Lösung filtrirt und in der Weise weiter behandelt, wie es auf Seite 140 für die Darstellung von Harnstoff angegeben ist. Bei der Fällung des Harnstoffs u. s. w. mit salpetersaurem Quecksilberoxyd bleiben Leucin und Tyrosin in Lösung. Letztere wird mit etwas Barytwasser versetzt, durch CO_2 der Barytüberschuss gefällt, zum Kochen erhitzt, filtrirt, zum Syrup verdunstet, der Rückstand mit heissem Alkohol ausgezogen, heiss filtrirt, der Alkohol abdestillirt und der Rückstand nach § 116 und § 148 auf Leucin und Tyrosin geprüft.

Gehirn, Rückenmark und Nerven.

325. Die Zusammensetzung von Gehirn und Nerven weicht so sehr von der der übrigen Organe ab, dass sie auch eine andere Behandlung zur Untersuchung und Bestimmung der Bestandtheile verlangen. Da sie oberflächlich sehr leicht eintrocknen, die getrocknete Schicht dann aus dem Innern das Wasser schwer entweichen lässt, durch Erhitzen auf 100° aber theilweise Zersetzung erfolgt, so lange Wasser vorhanden ist, wird die Bestimmung des Wassers und der Summe der festen Bestandtheile zweckmässig in dünnen flachen Schichten des Breies der zerriebenen Masse in einem Porcellan- oder einem Uhrglas ausgeführt, indem zunächst die gewogene Masse mit Alkohol übergossen, dann verdunstet, wieder mit Alkohol übergossen und verdunstet wird. Die hierdurch coagulirte Substanz trocknet dann auch über Schwefelsäure viel leichter und gleichmässiger, kann hierauf im Luftbade zunächst unter 60°, schliesslich bis über 100° ohne Zersetzung getrocknet werden.

Directe Verkohlung und Veraschung führen zu Aschen, in denen wohl Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium aber keine Säuren bestimmt werden können, weil die Phosphorsäure des sehr reichlich vorhandenen Lecithins die übrigen Säuren austreibt und sogar pyrophosphorsaures Salz liefert. Zur Bestimmung der anorganischen Bestandtheile in Gehirn und Nerven ist daher ein Verfahren einzuschlagen, welches das Lecithin vor dem Veraschen von den anorganischen Stoffen trennt, wie es ähnlich der in § 263 beschriebenen Methode zuerst von Geoghegan*) für das Gehirn angewendet ist und zuerst zu einer Kenntniss der anorganischen Stoffe desselben geführt hat. Da dies Verfahren sich auf das Engste dem der Trennung der organischen Bestandtheile anschliesst, soll dies zunächst geschildert, und die weitere Behandlung der Rückstände für die Veraschung im Anschluss hieran angegeben werden.

Die durch anatomische Präparation von den Hüllen und Gefässen möglichst gereinigten Hirn-, Rückenmark- oder Nervenmassen werden zunächst zum feinen Brei in der Reibschale zerrieben, in viel 80procentigen Alkohol gebracht, gut zusammengerührt und unter häufigem Umrühren 2 Tage stehen gelassen, dann filtrirt und mit Weingeist der Rückstand gewaschen. Nach nochmaligem Zerreiben wird der

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. S. 332.

Rückstand in Aether gebracht und 2 Tage unter öfterem Umschütteln stehen gelassen, 3—4 mal neue Aethermengen aufgegossen, umgeschüttelt und abgegossen. Der ungelöste Rückstand wird dann mit 95 procentigem Alkohol mehrstündig erwärmt bis zum beginnenden Sieden des Alkohols, heiss abgegossen und filtrirt und diese Extraction mit heissem Alkohol so lange wiederholt, als noch wesentliche Mengen von Substanz extrahirt werden. Der jetzt bleibende Rückstand in Wasser gebracht und erwärmt giebt an das Wasser wenig feste Stoffe ab, auch nur ein geringer Theil anorganischer Salze findet sich darin. Die noch ungelöst zurückgebliebenen Substanzen enthalten coagulirte Albuminstoffe, Nuclein, Neurokeratin (vergl. oben S. 312) und unbekannte Stoffe, von anorganischen Salzen Calcium und Magnesiumphosphat.

Der erste weingeistige Auszug wird zunächst durch Destillation, dann nach Zusatz von ein wenig reinem Baryumcarbonat auf dem Wasserbade zwischen 50 und 60 ° eingeengt, der schleimig syrupöse Rückstand mit mehreren Portionen Aether gut ausgezogen. Lecithin und etwas Cholesterin gehen in den Aether über. Diese Aetherlösungen werden mit den direct aus der Nervensubstanz erhaltenen Aetherauszügen vereinigt. Die heissen Alkoholauszüge heiss filtrirt geben beim Erkalten auf 0 ° einen weissen Niederschlag von Cerebrin, dem jedoch Lecithin reichlich anhaftet. Nach Abdestilliren der grössten Menge des Alkohols scheidet sich beim Erkalten noch etwas Cholesterin, Cerebrin und Lecithin aus. — War mit Weingeist der Nervenbrei von vornherein gut erschöpft, so finden sich im heissen alkoholischen Auszuge, nach Abscheidung der genannten Stoffe beim Erkalten und Filtriren, beim weiteren Verdunsten bei 50 bis 60 ° auf dem Wasserbade ausser Lecithin nur geringe Mengen organischer Stoffe und anorganischer Salze. Der Rückstand ebenso wie die abfiltrirten, beim Erkalten abgeschiedenen Substanzen werden mit Aether mehrmals ausgezogen, die ätherische Lösung zu den übrigen Aetherauszügen gebracht. Von den gesammelten Aetherauszügen wird der Aether abdestillirt, der Rückstand mit alkoholischer Kalilauge gekocht, dann der Alkohol auf dem Wasserbade verjagt, der Rückstand in nicht zu wenig Wasser gelöst, Cholesterin mit Aetherportionen ausgeschüttelt, dann die wässrige Lösung auf dem Wasserbade abgedampft zum Syrup, dieser mit reinem Salpeter in einer Platinschale gemischt und verbrannt, die Schmelze in Wasser gelöst und die gebildete Phosphorsäure bestimmt, wenn es sich um Bestimmung des Lecithins handelt, vergl. oben §§ 61 und 112 am Ende. Wünscht man

die Glycerinphosphorsäure, die fetten Säuren und das Cholin zu isoliren, so wird der Rückstand des Aetherauszugs mit heiss gesättigter Aetzbarytlösung eine Stunde lang gekocht und die einzelnen Spaltungsproducte nach S. 168 von einander getrennt. Durch Behandlung des Aetherextractrückstandes mit kaltem Alkohol lässt sich übrigens das darin sich lösende Lecithin vom grössten Theil des ungelöst bleibenden Cholesterin (vielleicht auch etwas Cerebrin) trennen. Der Gehalt des Cerebrin an Lecithin wird zweckmässig durch Kochen mit heiss gesättigtem Barytwasser entfernt, glycerinphosphorsaurer Baryt und Cholin bleiben dann in Lösung, die Barytverbindungen der fetten Säuren sind vom Cerebrin durch Umkrystallisiren aus heissem Alkohol zu trennen.

Zur Bestimmung der anorganischen Bestandtheile werden die von Cholesterin, Lecithin und Cerebrin befreiten Extractrückstände verascht, die ungelöst gebliebenen Stoffe mit etwas völlig reinem kohlensauren oder salpetersauren Baryt (derselbe darf kein Calcium, Magnesium, Kalium, Natrium enthalten) gut gemischt und gleichfalls in einer Platinschale verbrannt. Werden dann in dieser letzteren Asche Calcium, Magnesium und Phosphorsäure bestimmt, so ergiebt sich eine Quantität von Phosphorsäure, welche durch Calcium und Magnesium nicht gesättigt ist; dieselbe hat dem Nuclein der Nervensubstanz zugehört. Im Uebrigen enthalten die Hirnaschen relativ viel Chlorkalium, phosphorsaures Kali, phosphor- und kohlensaures Natron, sehr wenig schwefelsaures Salz.

Der oben vorgeschriebene Zusatz von Bariumcarbonat zum kalten weingeistigen Auszug vor dem Eindampfen hat den Zweck, die freie Säure (Milchsäure) zu neutralisiren, damit durch sie nicht Lecithin zersetzt werde.

Zur Untersuchung auf Harnstoff, Kreatin, Inosit, Harnsäure, Hypoxanthin, Xanthin, Guanin, Milchsäure, ist es nicht zweckmässig, das Gehirn u. s. w. mit Barytwasser zu kochen, wie es früher empfohlen ist, sondern nach obiger Methode zu verfahren. Der Auszug mit kaltem Weingeist nach der Behandlung des Rückstandes mit Aether zur Extraction des Lecithin und Cholesterin, ferner der Wasserauszug, welcher nach der Behandlung der Organmasse mit Aether und heissem Alkohol angefertigt wird, enthalten diese Stoffe und ihre Untersuchung wird nach den Methoden ausgeführt, welche bei der Schilderung der einzelnen Stoffe selbst oder bei der Beschreibung der Methoden zur Untersuchung der Muskeln, Drüsen u. s. w. angegeben sind. Zur Auf-

findung der Harnsäure würde die Hirnmasse mit heissem Wasser schliesslich zu extrahiren, zur Gewinnung von Hypoxanthin, Xanthin, Guanin noch mit etwas Schwefelsäure zu kochen und nach § 320 zu behandeln sein.

Zur Darstellung des Protagon aus Ochsengehirn haben Gamgee und Blankenhorn*) das gereinigte zerkleinerte Gehirn 12—18 Stunden in einem grossen Incubator bei 45° mit 85 procentigem Alkohol digerirt, heiss filtrirt, die ungelöst gebliebene Masse mit neuen Mengen Alkohol in gleicher Weise behandelt. Die Filtrate auf 0° erkaltet, schieden reichlichen Niederschlag aus, der abfiltrirt, mit Aether zur Entfernung von Cholesterin und andern in Aether löslichen Körpern geschüttelt, dann mit Papier abgepresst, getrocknet, darauf wieder mit Wasser befeuchtet, in Alkohol suspendirt, bei 45° darin gelöst und durch Erkalten abermals zur Abscheidung gebracht, von Neuem mit Aether gewaschen u. s. w. (Vergl. oben S. 192.)

Nachweis von Blut in Flecken auf Zeugen, Metall, Holz u. s. w. zu forensischen Zwecken.

§ 326. Eine kleine Portion der für Blut gehaltenen Substanz wird auf den Objectträger mit einem kleinen Tropfen Wasser zusammengebracht, ein Deckglas aufgelegt und die etwa vorhandenen Formen beobachtet, zugleich constatirt, ob ein rother oder bei starker Verdünnung grünlicher Farbstoff in Lösung übergeht. Nur im Falle, dass diese Farbstofflösung eintritt und die zu Gebote stehende Quantität nicht äusserst gering ist, wendet man sich zunächst zur spectroskopischen Untersuchung. Tritt Lösung von Farbstoff nicht ein, so ist Blut entweder gar nicht vorhanden oder bereits durch Erhitzen, Einwirkung von Säure oder in anderer Weise zersetzt, so dass nur Nachweis von Hämatin noch geführt werden kann (s. weiter unten).

Eingetrocknete Blutflecke enthalten weder Oxyhämoglobin noch Hämoglobin, sondern allein Methämoglobin, welches in kaltem Wasser löslich ist und bei genügender Concentration der Lösung einen Absorptionsstreif zwischen den Spectrallinien C und D, näher der ersteren Linie, und zwei schwächere Streifen zwischen D und E, ungefähr an der Stelle der Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobin erkennen lässt. Nur wenn reichliches Material in den Blutflecken zur Untersuchung

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 260.

vorliegt, werden diese Streifen in genügend concentrirter Lösung in einem Probirglase beobachtet werden können. Es ist dann auch zweckmässig, die Lösung durch ein sehr kleines Filterchen zu filtriren. Hat man die Streifen deutlich beobachtet, so verdünnt man mit Wasser, bis sie nur noch schwach erkennbar sind, bringt ein Paar Tropfen Schwefelammonium hinzu und findet nun bei der spectroscopischen Prüfung einen Absorptionsstreif des Hämoglobin in der Mitte zwischen D und E. Schüttelt man mit Luft, so treten nun die Oxyhämoglobinstreifen für kurze Zeit im Spectrum auf, verschwinden bald wieder und kehren bei erneutem Schütteln mit Luft zurück. Fügt man zu einem Theil der Mischung einen Tropfen starker Natronlauge und lässt stehen oder erwärmt mässig, so treten die in Fig. 10 No. 4 auf S. 298 bezeichneten Absorptionen des Hämochromogens deutlich ein, auch noch bei grosser Verdünnung erkennbar.

Sind diese spectroscopischen Erscheinungen alle beobachtet, so ist jeder Zweifel an der Anwesenheit von Blutfarbstoff beseitigt. Ist jedoch das Material nicht ausreichend, so können auch mit viel weniger Substanz die Reactionen in folgender Weise auf dem Objectträger ausgeführt werden. Eine Portion der Flecke wird auf den Objectträger gebracht, ein wenig Wasser zugefügt, mit Schweinefett bestrichene Glasleistchen herumgelegt und ein Deckglas so darüber gedeckt, dass der durch Glas und Fett abgeschlossene Raum neben der Substanz des Fleckes und Wasser wenig oder keine Luft enthält. Wenn auch die Methämoglobinstreifen nicht deutlich bei der spectroscopischen Untersuchung des auf weissem Papier liegenden Objectes zu erkennen sind, lässt man unter einer mit Wasser befeuchteten Glasglocke bei warmer Temperatur zwei bis drei Tage stehen. Durch die Fäulniss wird das Methämoglobin reducirt und es tritt der Streifen des Hämoglobin auf. Hebt man das Deckglas in die Höhe und legt es wieder auf, so erscheinen dann im Spectrum die beiden Oxyhämoglobinstreifen. Ein kleines Tröpfchen Natronlauge und zugleich ein Tröpfchen Schwefelammonium zur Flüssigkeit gebracht, rufen nach einiger Zeit, wenn die Mischung von der Luft gut abgeschlossen bleibt, das Spectrum des Hämochromogen hervor. Die Untersuchung auf weissem Untergrund ist oft weniger zweckmässig als auf dem Tisch des Mikroskops, wenn der Spiegel helles Licht auf das Object von unten her wirft, der Tubus des Mikroskops mit Ocular und Objectiven entfernt ist und mit Browning'schem Spectroskop senkrecht von oben nach unten beobachtet wird. Die nach Browning angefertigten Taschenspektro-

skope sind allen anderen Spectralapparaten für diese Untersuchungen weit vorzuziehen.

Ist die Quantität des Untersuchungsmaterials in den Flecken sehr beschränkt oder sind mit einem Theil desselben die beschriebenen spectroskopischen Untersuchungen ausgeführt, so wird ein kleiner Theil der Substanz in einem Uhrglase mit einer Spur Steinsalz und 8 bis 16 Tropfen Eisessig versetzt, die spröde Substanz mit einem Glasstab zerdrückt, dann über kleiner Glasflamme zum beginnenden Sieden erhitzt und auf dem Wasserbade verdampft bis der Essigsäuregeruch verschwunden ist. Man untersucht dann den Rückstand im Uhrglase bei 300facher Vergrösserung auf die rhombischen, im durchfallenden Lichte braunen, im auffallenden Lichte blauschwarzen Häminkrystalle. Dieselben sind unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, lösen sich leicht in Natronlauge. Die rothe, in dünnerer Schicht grünliche Lösung der Häminkrystalle auf dem Objectträger unter Deckglss oder im Probirglas mit etwas Schwefelammonium kurze Zeit stehen gelassen, zeigt bei der Untersuchung mit dem Spectroskop die beiden Absorptionsstreifen des Hämochromogen; besonders sein Absorptionsstreif, ungefähr in der Mitte zwischen D und E ist noch in sehr grosser Verdünnung sicher zu erkennen.

Die Bildung der Häminkrystalle mit Chlornatrium und Eisessig ist eine Eigenschaft des Blutfarbstoffes und seiner nächsten Zersetzungsproducte, welche an sich genügend ist, um ihn nachzuweisen; sie erfolgt stets, wenn getrocknetes unzersetztes Methämoglobin in angegebener Weise behandelt wird. Gekochtes Blut, lufttrocken erhitztes oder mit Säure oder Kali behandeltes Methämoglobin geben diese Häminkrystalle entweder unvollständig, unsicher oder gar nicht. Die einzigen Reactionen, welche unter diesen Verhältnissen übrig bleiben, sind die Lösung in etwas Natronlauge zur rothen, in dünner Schicht grünen Flüssigkeit, welche mit etwas Schwefelammonium versetzt schön hellroth wird und spektroskopisch die Streifen des Hämochromogen erkennen lässt, welche beim kurzen Schütteln mit Luft verschwinden, beim ruhigen Stehen wieder erscheinen, nach Behandlung der Flüssigkeit mit einer starken Säure nicht wieder hervorgerufen werden, weil hierbei das Hämochromogen in Hämatoporphyrin übergeht (vergl. oben §§ 159, 160, 161, 189, 190, 191).

Anhang.

Tabelle I.

Volumina und specifische Gewichte des Wassers bei den verschiedenen Temperaturen nach Kopp.

Temperatur. Grade.	A. Volumen des Wassers (bei 0° = 1).	B. Spec. Gewicht des Wassers (bei 0° = 1)	Temperatur. Grade.	A. Volumen des Wassers (bei 0° = 1).	B Spec Gewicht des Wassers (bei 0° = 1).
0	1,00000	1,000000	17	1,00101	0,988992
1	0,99995	1,000053	18	1,00118	0,998817
2	0,99991	1,000092	19	1,00137	0,998631
3	0,99989	1,000115	20	1,00157	0,998435
4	0,99988	1,000123	21	1,00178	0,998228
5	0,99988	1,000117	22	1,00200	0,998010
6	0,99990	1,000097	23	1,00223	0,997780
7	0,99994	1,000062	24	1,00247	0,997541
8	0,99999	1,000014	25	1,00271	0,997293
9	1,00005	0,999952	26	1,00295	0,997035
10	1,00012	0,999876	27	1,00319	0,996767
11	1,00021	0,999785	28	1,00347	0,996489
12	1,00031	0,999686	29	1,00376	0,996202
13	1,00043	0,999572	30	1,00406	0,995908
14	1,00056	0,999445	35	1,00570	
15	1,00070	0,999306	40	1,00753	
16	1,00085	0,999155			

Tabelle II.

Atomgewichte der Elemente, welche in diesem Handbuche in Rechnung kommen.

Barium	$\overset{\text{II}}{\text{Ba}}$	137,20.	Natrium	Na	23,05.
Calcium	$\overset{\text{II}}{\text{Ca}}$	40,00.	Phosphor	$\overset{\text{V}}{\text{P}}$	31,00.
Chlor	Cl	35,46.	Platin	$\overset{\text{IV}}{\text{Pt}}$	197,00.
Eisen	$\overset{\text{VI}}{\text{Fe}}$	112,08.	Quecksilber	$\overset{\text{II}}{\text{Hg}}$	200,00.
Fluor	Fl	19,00.	Sauerstoff	$\overset{\text{II}}{\text{O}}$	16,00.
Kalium	Ka	39,14.	Schwefel	$\overset{\text{II}}{\text{S}}$	32,08.
Kohlenstoff	$\overset{\text{IV}}{\text{C}}$	12,00.	Silber	Ag	107,93.
Kupfer	$\overset{\text{II}}{\text{Cu}}$	63,40.	Silicium	$\overset{\text{IV}}{\text{Si}}$	28,40.
Lithium	Li	7,02.	Stickstoff	$\overset{\text{III}}{\text{N}}$	14,04.
Magnesium	$\overset{\text{II}}{\text{Mg}}$	24,00.	Wasserstoff	H	1,00.
Mangan	$\overset{\text{VI}}{\text{Mn}}$	111,00.			

Verhältnisszahlen zur Berechnung der Zusammensetzung von Aschen u. s. w. aus den einzelnen Bestimmungen.

Chlorsilber : Chlor . . . . = 1 : 0,24735
$AgCl$ Cl

Chlorsilber : Chlorwasserstoff . . . . = 1 : 0,25427
$AgCl$ ClH

Chlorsilber : Chlornatrium . . . . = 1 : 0,40805
$AgCl$ $NaCl$

Schwefelsaurer Baryt : Schwefel . . . . = 1 : 0,13752
$BaSO_4$ S

Schwefelsaurer Baryt : Schwefelsäure . . . . . . = 1 : 0,41187
$BaSO_4$ SO_4

Schwefelsaurer Baryt : Barium . . . . = 1 : 0,58813
$BaSO_4$ Ba

Kaliumplatinchlorid : Kalium	K_2PtCl_6 : K_2	= 1 : 0,16040
Kaliumplatinchlorid : Chlorkalium	K_2PtCl_6 : $2KCl$	= 1 : 0,30571
Ammoniumplatinchlorid : Ammoniak	$(NH_4)_2PtCl_6$: $2NH_3$	= 1 : 0,07644
Platin : Ammoniak	Pt : $2NH_3$	= 1 : 0,17299
Chlornatrium : Natrium	$NaCl$: Na	= 1 : 0,39395
Kohlensaurer Kalk : Calcium	$CaCO_3$: Ca	= 1 : 0,40000
Calciumoxyd : Calcium	CaO : Ca	= 1 : 0,71429 (= 14 : 10)
Kohlensäure : Kohlensaurer Kalk	CO_2 : $CaCO_3$	= 1 : 2,27273 (= 44 : 100)
Pyrophosphorsaure Magnesia : Magnesium	$Mg_2P_2O_7$: Mg_2	= 1 : 0,21622
Pyrophosphorsaure Magnesia : Phosphorsäure	$Mg_2P_2O_7$: $2PO_4$	= 1 : 0,78378
Phosphorsaures Eisenoxyd : Phosphorsäure	$Fe(PO_4)_2$: $2PO_4$	= 1 : 0,62897
Phosphorsäure : Phosphorsaures Natron	PO_4 : Na_2HPO_4	= 1 : 1,49579
Phosphorsäure : Phosphorsaurer Kalk	$2PO_4$: $Ca_3(PO_4)_2$	= 1 : 1,63158
Phosphorsaures Eisenoxyd : Eisen	$Fe(PO_4)_2$: Fe	= 1 : 0,37103
Eisenoxyd : Eisen	FeO_3 : Fe	= 1 : 0,70015
Mangansulfür : Mangan	MnS_2 : Mn	= 1 : 0,63371

Alphabetisches Register.

A.

B.

C.

D.

E.

F.

G.

H.

I.

J.

K.

L.

M.

N.

O.

P.

Q.

R.

S.

T.

U.

V.

W.

X.

Z.



Gedruckt bei L. Schumacher in Berlin.